

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**Sección de Biológicas. inéditas**



**TESIS DOCTORAL**

**Estudio del efecto de la radiación Gamma sobre la brotación  
de yemas de tubérculos de patata (*Solanum tuberosum* L.) y  
desarrollo de un test biológico para la identificación de  
tubérculos irradiados**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**Ma. de los Angeles García Collantes**

**Madrid, 2015**

---

Facultad de CIENCIAS  
Sección de BIOLOGICAS

---



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE



531004560X

ESTUDIO DEL EFECTO DE LA RADIACION GAMMA  
SOBRE LA BROTACION DE YEMAS DE TUBERCU-  
LOS DE PATATA (*Solanum tuberosum* L.) Y DESA-  
RROLLO DE UN TEST BIOLOGICO PARA LA IDEN-  
TIFICACION DE TUBERCULOS IRRADIADOS.

M E M O R I A

presentada para aspirar al Grado de Doctor en Ciencias

por

Maria de los Angeles García Collantes



R. 28.229

Madrid, Abril de 1974



ESTUDIO DEL EFECTO DE LA RADIACION GAMMA  
SOBRE LA BROTACION DE YEMAS DE TUBERCU-  
LOS DE PATATA (*Solanum tuberosum* L.) Y DESA-  
RROLLO DE UN TEST BIOLOGICO PARA LA IDEN-  
TIFICACION DE TUBERCULOS IRRADIADOS.

El presente trabajo ha sido realizado en los laboratorios de Biología y Fisiología Vegetal de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de Madrid, en colaboración con la Sección de Aplicaciones de los Isótopos de la Junta de Energía Nuclear.

Quiero aquí expresar mi agradecimiento:

Al Dr. D. Jesús Fernández González, director de esta tesis, que ha sabido compartir trabajo, alegría e inquietudes y a quien le debo cuanto de bueno pueda tener este estudio.

Al Profesor D. Florencio Bustinza, que me inició en el estudio de la Fisiología Vegetal y una vez más me ha dado su generosa y preciada ayuda a lo largo de todo este trabajo, aceptando apadrinarlo.

Al Profesor D. César Gomez-Campo por las múltiples facilidades concedidas para efectuar esta tesis en su laboratorio así como por las numerosas sugerencias, ideas y orientaciones.

A Dña. Maria Estrella Tortosa por su muy valiosa colaboración con las microfotografías que ilustran esta memoria.

A D. Agustín Alcázar por su eficaz ayuda en todas las experiencias y especialmente en la realización de las preparaciones histológicas.

A los Profesores del laboratorio y compañeros, Dña. Margarita Clemente, D. Luis Ayerbe y D. Esteban Hernández, por la ayuda prestada en todo momento.

Al Dr. Ortín Suñe y a Dña. Pilar Mazón por los datos bibliográficos facilitados y por la colaboración en el desarrollo del tema.

A D. Fernando Lumbreras por su generosa colaboración en diversas partes del trabajo.

Y finalmente a Dña. Rosa González y a D. Ernesto Santos por el interés que han puesto en la mecanografía del texto y en la delineación de las figuras de la presente memoria.

## RESUMEN

1. INTRODUCCION	1
1.1. OBJETO E INTERES DEL TEMA	1
1.2. CARACTERISTICAS DEL TUBERCULO DE PATATA	3
1.2.1. Origen	3
1.2.2. Morfología externa	6
1.2.3. Anatomía interna	9
1.2.4. Anatomía de la yema durmiente	12
1.2.5. Fisiología del tubérculo después de la recolección	19
1.2.5.1. Principales reguladores endógenos implicados en el período de latencia de los tubérculos	21
1.2.5.1.1. Complejo B-inhibidor	21
1.2.5.1.2. Giberelinas	28
1.2.5.1.3. Citocininas	33
1.2.5.1.4. Auxinas	35
1.2.5.2. Interacción de los distintos reguladores endó- genos durante el período de latencia	36
1.3. INHIBICION ARTIFICIAL DE LA BROTAION DE TU- BERCULOS POR METODOS TRADICIONALES	41
1.3.1. Utilización del frío	41
1.3.2. Inhibidores químicos	43
1.3.2.1. Tratamiento de la planta madre con hidrazida maleica	44
1.3.2.2. Tratamiento del tubérculo con IPC-CIPC	46

1.4. UTILIZACION DE LA RADIACION GAMMA EN LA	
CONSERVACION DE LOS TUBERCULOS DE PATATA	50
1.4.1. Estudio básico de la radiación gamma	50
1.4.1.1. Naturaleza	50
1.4.1.2. Unidades de medida	52
1.4.1.3. Efecto de la radiación sobre el material bio- lógico	54
1.4.1.3.1. Nivel físico	57
1.4.1.3.2. Nivel químico	62
1.4.1.3.3. Nivel fisiológico	73
1.4.1.3.4. Nivel celular	76
1.4.1.3.5. Nivel organismo	80
1.4.2. Estudio de la interacción de las radiaciones con los tubérculos de patata.	82
1.4.2.1. Generalidades e Historia	82
1.4.2.2. Influencia sobre yemas y meristemos	90
1.4.2.3. Efecto sobre los mecanismos de defensa de los tubérculos	98
1.4.2.3.1. Peridermo de defensa	98
1.4.2.3.2. Taninos	100
1.4.2.3.3. Infecciones	101
1.4.2.4. Pruebas para la identificación de patatas irradiadas	104
1.4.2.5. Aprobación legal del consumo de patatas irradiadas	107

	Página
2. MATERIAL Y METODOS	114
2.1. TUBERCULOS DE PATATA	114
2.1.1. Variedades utilizadas	114
2.1.2. Irradiación	114
2.1.3. Condiciones de almacenamiento	116
2.1.4. Control de la brotación	116
2.2. TECNICAS HISTOLOGICAS	117
2.2.1. Toma de muestras	117
2.2.2. Inclusión en parafina	117
2.2.3. Corte con microtomo	118
2.2.4. Tinciones utilizadas	119
2.2.4.1. Hematoxilina de Delafield	119
2.2.4.2. Safranina-fast-green	120
2.2.5. Observaciones	122
2.3. CULTIVO DE YEMAS IN VITRO	123
2.3.1. Medio utilizado	123
2.3.1.1. Medio Base	123
2.3.1.2. Fitorreguladores utilizados	125
2.3.2. Siembra de yemas aisladas	125
2.3.3. Siembra de injertos	126
2.3.4. Evaluación del desarrollo	130
2.4. TRATAMIENTOS EFECTUADOS PARA INHIBIR ARTIFICIALMENTE LA BROTACION DE LOS TUBERCULOS.	131
2.4.1. Refrigeración	131
2.4.2. Inhibidores químicos	131
2.4.2.1. Hidrazida maleica	131
2.4.2.2. IPC-CIPC	131
2.4.3. Radiación gamma	132

3. RESULTADOS	133
3.1. EVOLUCION DE LAS YEMAS EN EL TUBERCULO	133
3.1.1. Examen macroscópico	133
3.1.1.1. Tubérculos testigo	133
3.1.1.2. Irradiación temprana	133
3.1.1.3. Irradiación tardía	134
3.1.1.4. Comparación de los resultados	135
3.1.1.4.1. Resultados quincenales	135
3.1.1.4.2. Resultados finales	135
3.1.2. Estudio histológico	146
3.1.2.1. Yemas procedentes de tubérculos testigo (evolución normal)	146
3.1.2.2. Yemas procedentes de tubérculos irradiados	148
3.1.2.2.1. Yemas irradiadas en estado inicial de formación (tipo A)	149
3.1.2.2.2. Yemas irradiadas en estado medio de formación (tipo B)	150
3.1.2.2.3. Yemas irradiadas en estado de ini- cio del desarrollo (tipo C)	151
3.2. EVOLUCION DE LAS YEMAS AISLADAS CULTIVADAS IN VITRO SOBRE MEDIO NUTRITIVO	164
3.2.1. Desarrollo de yemas no irradiadas	164
3.2.1.1. Medio sin fitohormonas	164
3.2.1.2. Medio con ácido giberélico y con cinetina	164
3.2.2. Desarrollo de yemas irradiadas	167
3.2.2.1. Irradiación temprana	167
3.2.2.1.1. Solución nutritiva sin fitohormonas	167
3.2.2.1.2. Solución nutritiva con fitohormonas	168

	Página
3.2.2.2. Irradiación tardía	182
3.2.2.2.1. Solución nutritiva sin fitohormonas	182
3.2.2.2.2. Solución nutritiva con fitohormonas	182
3.2.3. Comparación de resultados	183
3.3. DESARROLLO DE YEMAS INJERTADAS SOBRE PARÉNQUIMA	199
3.3.1. Yemas injertadas sobre su propio parénquima	199
3.3.2. Yemas no irradiadas injertadas sobre parénquima irradiado	199
3.3.3. Yemas irradiadas injertadas sobre parénquima no irradiado	200
3.3.4. Comparación de resultados	200
3.4. ESTUDIO COMPARATIVO DE LA INHIBICION PRODUCIDA POR CUATRO TRATAMIENTOS ANTIGERMINANTES.	212
3.4.1. Tubérculos completos	212
3.4.2. Desarrollo de yemas cultivas "in vitro"	213
4. DISCUSION DE RESULTADOS	228
4.1. EVOLUCION DE LAS YEMAS EN EL TUBERCULO	228
4.1.1. Examen macroscópico	228
4.2.1. Estudio histológico	231
4.2. DESARROLLO DE YEMAS AISLADAS CULTIVADAS IN VITRO	235
4.3. DESARROLLO DE LAS YEMAS INJERTADAS	238



4.4. INTERPRETACION DEL EFECTO PRODUCIDO POR LA RADIACION SOBRE LA BROTAION DE LOS TUBERCULOS	243
4.5. COMPARACION DE LOS CUATRO TRATAMIENTOS ANTIGERMINANTES	246
5. APLICACION PRACTICA DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS. TEST DE IDENTIFICACION DE PATATAS IRRADIADAS BASADO EN EL CULTIVO DE YEMAS "IN VITRO".	247
5.1. REALIZACION PRACTICA	247
5.1.1. Material necesario	247
5.1.2. Siembra	248
5.2. INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS	250
5.3. INTERES DEL BIOENSAYO PARA LA IDENTIFICACION DE PATATAS IRRADIADAS	252
5.3.1. Para el control oficial del tratamiento	252
5.3.2. Para el control en las plantas industriales de irradiación de tubérculos	252
6. CONCLUSIONES	254
7. BIBLIOGRAFIA	257
ANEXO I : Indice de Tablas	279
ANEXO II : Indice de Figuras	283

## RESUMEN

En el presente trabajo se estudia el efecto producido por la radiación gamma del  $^{60}\text{Co}$  sobre el desarrollo de yemas de tubérculos de patata (*Solanum tuberosum* L.).

En primer lugar se realiza una profunda revisión bibliográfica del tema, tanto de los aspectos fisiológicos relativos a la brotación natural del tubérculo, como de los relativos al control artificial de esta brotación, siendo estudiado con especial detalle el caso de la inhibición producida por las radiaciones gamma. También se realiza un estudio histológico de la anatomía del brote de patata y se da una interpretación personal de su estructura.

En la parte experimental, se estudia la brotación natural de los tubérculos testigo comparándola con la de los irradiados. Las irradiaciones se efectuaron en dos épocas del desarrollo del tubérculo (al principio y al final del período de reposo) y las dosis aplicadas fueron de 3, 6, 9 y 12 Krad. Periódicamente se llevó un control de la brotación de los tubérculos así como del número de brotes y longitud de los mismos y se realizaron observaciones histológicas de las yemas irradiadas. De estas observaciones se concluye que cuanto más avanzado es el estado de desarrollo de aquellas, más afectadas quedan como consecuencia de la irradiación, siendo las yemas axilares más radiorresistentes que las apicales.

La técnica de cultivo de yemas sobre medio nutritivo artificial se empleó para forzar el desarrollo de los brotes y resaltar el efecto producido por la irradiación. Utilizando también esta técnica, se estudia el efecto de la irradiación sobre la yema y sobre el parénquima del tubérculo por separado haciendo injertos entre los diferentes

tratamientos. En este sentido se llega a la conclusión de que el efecto de las radiaciones sobre la inhibición de la brotación radica principalmente en la destrucción de los meristemos de las yemas, mientras que el parénquima irradiado influye sobre la longitud de los brotes.

En tratamientos comparativos de inhibición realizados sobre patatas tratadas por refrigeración, IPC-CIPC, hidrazida maleica e irradiación, se ve que se pueden distinguir unos tubérculos de otros por la respuesta de sus yemas al ser cultivadas "in vitro", habiendo siempre una clara diferencia entre las irradiadas y las demás. En estos estudios se dan las bases para un bioensayo sobre identificación de patatas irradiadas y se describe su realización práctica así como la interpretación de los resultados. Este bioensayo puede ser empleado tanto para un control oficial del tratamiento como para un control rutinario en las plantas industriales de irradiación de tubérculos.

## 1. INTRODUCCION

## 1. INTRODUCCION

### 1.1. OBJETO E INTERES DEL TEMA

La utilización de las radiaciones ionizantes en la conservación de alimentos, es un tema ampliamente conocido y divulgado en numerosos artículos. Desde las primeras experiencias que se realizaron en este campo, se vió que uno de los alimentos que ofrecía mejores perspectivas para su conservación por medio de las radiaciones, eran los tubérculos de patata.

Debido a los excelentes resultados que se obtienen por este método sobre el control de la brotación de los tubérculos, numerosos investigadores han realizado experiencias sobre este tema. En general, estos estudios se han dirigido principalmente a determinar las dosis óptimas de irradiación y la influencia de las condiciones externas sobre la conservación de los tubérculos irradiados. Otros trabajos se han centrado en la determinación de las variaciones de los principales índices bioquímicos, así como de los aspectos bromatológicos y sanitarios. La mayoría de estos estudios han sido patrocinados por países y Organizaciones internacionales interesados en la aplicación de las técnicas nucleares a la conservación de alimentos y han dado como resultado el que hoy en día estén prácticamente resueltos los problemas tecnológicos que implica este proceso.

El estudio del mecanismo básico por el que se inhibe la brotación de los tubérculos, ha sido, sin embargo, un tema poco estudiado y los trabajos realizados en este sentido dejan una serie tal de dudas e interrogantes que hacen que, hoy en día, no se sepa a ciencia cierta la causa intrínseca de esta inhibición.

Con objeto de profundizar en estos estudios, se emprendió la realización del presente trabajo en el cual se trata de estudiar a nivel histológico los efectos producidos por la irradiación sobre el desarrollo de las yemas de los tubérculos y a partir de estos conocimientos y de los adquiridos mediante el cultivo "in vitro" de yemas irradiadas, poder explicar muchas de las observaciones realizadas en los tubérculos a nivel macroscópico. Con los resultados obtenidos se pretende elaborar una teoría con base histológica que explique la diferente respuesta de los tubérculos en función de la dosis y época de irradiación.

Uno de los impedimentos oficiales a la técnica de conservación de alimentos por irradiación, está fundado en la dificultad de detección del tratamiento aplicado. Hasta el presente, los intentos de identificación de alimentos irradiados mediante los cambios que se operan en los componentes bioquímicos, no han dado, en general, resultados satisfactorios. Por este motivo, en nuestro caso, hemos intentado el establecimiento de un test de identificación fundado en el estudio del desarrollo de las yemas del tubérculo cultivadas "in vitro".

## 1.2. CARACTERISTICAS DEL TUBERCULO DE PATATA

### 1.2.1. Origen

El tubérculo de patata es una formación que tiene lugar a partir de los tallos subterráneos de la planta, concretamente de sus extremos distales. Antes de que tenga lugar cualquier tipo de ensanchamiento, la punta del estolón, presenta una estructura morfológica idéntica a la de cualquier yema apical del tallo aéreo. Así, parece un meristemo apical y unas yemas laterales, estando situadas estas últimas en las axilas de las escamas jóvenes del estolón.

Al observar el ciclo vegetativo de la patata, se pueden distinguir cuatro fases bien diferenciadas:

La primera, denominada "fase de latencia", empieza con la muerte y desecación de la parte aérea de la planta madre y finaliza con la brotación de los tubérculos que quedaron en estado latente en el suelo. En la patata cultivada, el comienzo de esta fase coincide con la recolección de los tubérculos, los cuales se almacenan para ser después consumidos si se destinan a tal fin, o sembrados cuando hayan adquirido la madurez fisiológica necesaria para la brotación, que tiene lugar al final de esta primera fase. Durante el periodo de latencia, ocurren en el tubérculo una serie de transformaciones que hacen pasar a las yemas existentes en el mismo, desde un estado inicial de reposo hasta un estado final de crecimiento activo.

La segunda fase, es la llamada de "crecimiento vegetativo de la parte aérea" y comprende desde la brotación hasta el comienzo de la formación de nuevos tubérculos en la plan-

ta que se ha originado a partir de los brotes anteriores. Durante esta fase tiene lugar el crecimiento del sistema radicular y aéreo, adquiriendo las hojas un gran desarrollo que es tanto más rápido cuanto mayores sean la temperatura y el grado higrométrico. Este desarrollo vegetativo, en principio, se verifica a expensas de las reservas del tubérculo inicial y posteriormente se incrementa por la absorción radicular de agua y sustancias nutritivas del suelo y por la actividad fotosintética de las hojas.

La tercera fase es la de "tuberización" y comprende desde el comienzo de la formación de los tubérculos hasta la floración, ocurriendo en ella un aumento progresivo en tamaño de los tubérculos. La porción aérea, a su vez, detiene su crecimiento y aparecen, al final de este período, los primeros síntomas de marchitez que coinciden con la disminución de la actividad de las raíces.

El número y tamaño de los tubérculos que produce cada planta, depende fundamentalmente de la variedad y del abonado. Normalmente se forma un sólo tubérculo por cada estolón, aunque algunos factores negativos, como por ejemplo la escasez de agua, pueden inducir la aparición de varios de ellos en forma de rosario, que resultan del estrangulamiento del tubérculo original.

La cuarta fase es la de "senescencia de la parte aérea y fin de la tuberización". Abarca desde la floración hasta la muerte y desecación de dicha parte. Al final de esta etapa, el tubérculo alcanza su máxima riqueza en fécula, mientras que casi desaparece la glucosa y apenas quedan vestigios de azúcares reductores. Es en estos momentos cuando en las plantas cultivadas se verifica la recolección.



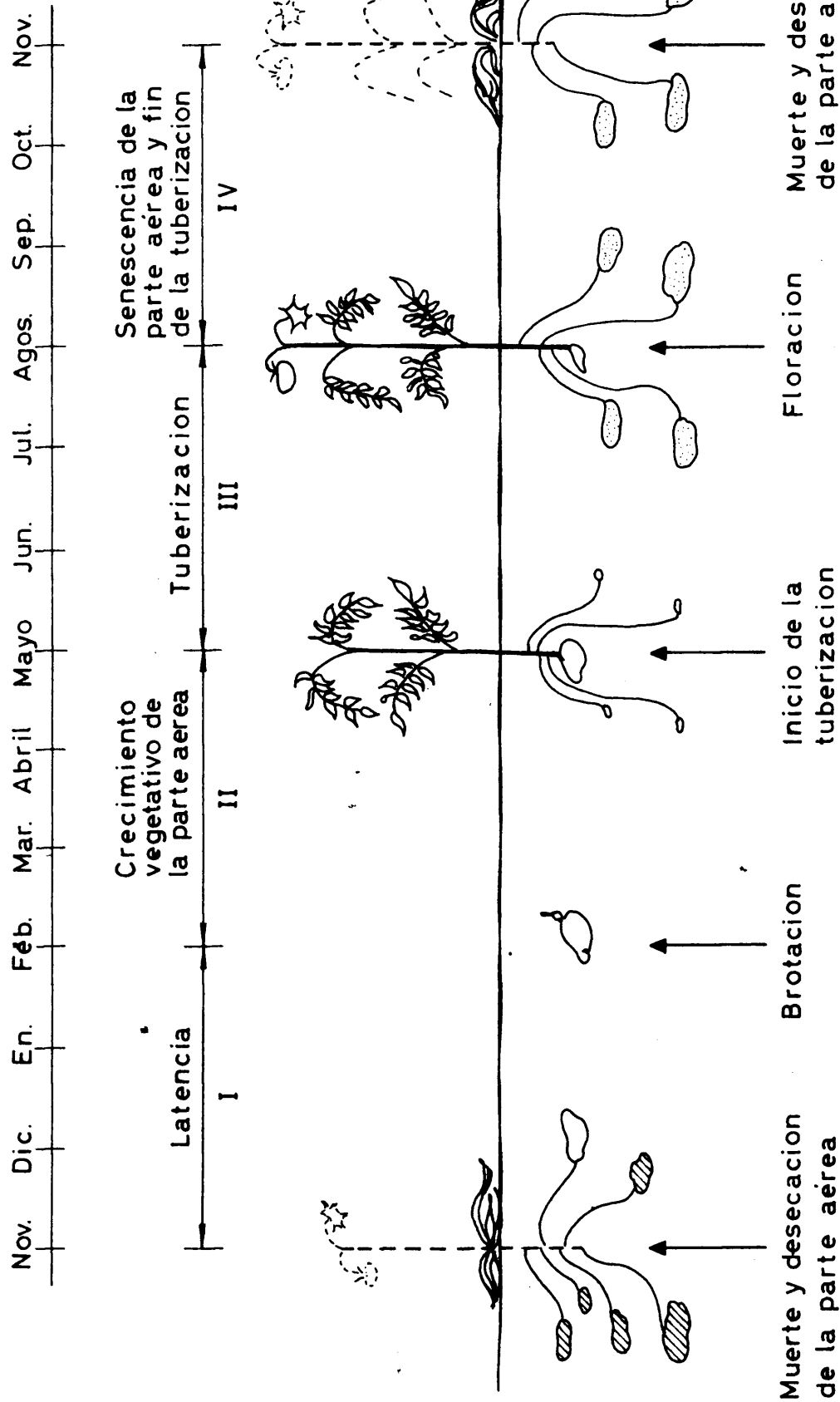


Fig. 1.- Esquema del ciclo vegetativo de la patata

En la fig. 1 se representa el esquema del ciclo vegetativo de la patata, que se acaba de describir.

#### 1.2.2. Morfología externa

El tubérculo es, pues, la extremidad hipertrofiada de un estolón, y posee una estructura anatómica comparable a la del tallo aéreo de la planta.

La forma del tubérculo depende de la variedad, del suelo y del clima, pudiendo ser alargado, oval o redondeado.

El tubérculo está recubierto por una delgada película o tegumento de textura lisa o rugosa, que se desprende fácilmente en las patatas nuevas. Su color depende de la variedad, siendo los más comunes el amarillo, pardo, púrpura y blancuzco. La superficie del tubérculo está salpicada de pequeñas formaciones circulares, los estomas, cuya misión es equivalente a los del tallo aéreo.

En la superficie del tubérculo, aparecen los "ojos" que pueden ser superficiales o hundidos.

Morfológicamente, se pueden distinguir en el tubérculo dos zonas: una basal, o "talón", que se distingue por una depresión redondeada cercana al lugar de ruptura del tubérculo y el estolón, y una zona apical o "corona", donde están localizados la mayoría de los ojos.

Comparando el tubérculo con el tallo aéreo, se observa que los llamados "ojos" de la patata, son formaciones homólogas a las yemas axilares del tallo, siendo la yema apical de la corona la correspondiente al ápice caulinar.

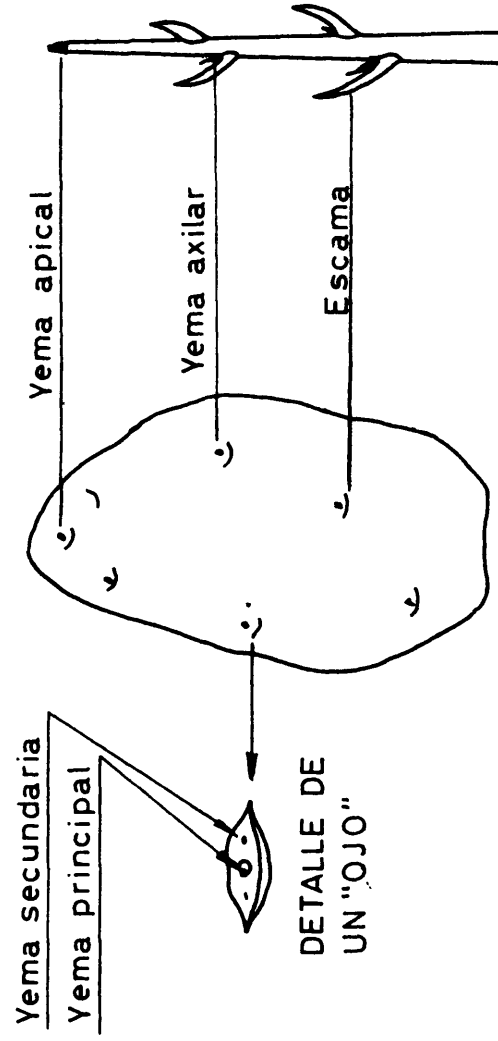


Fig. 2.- Homología entre la configuración de un tallo aéreo y un tubérculo.

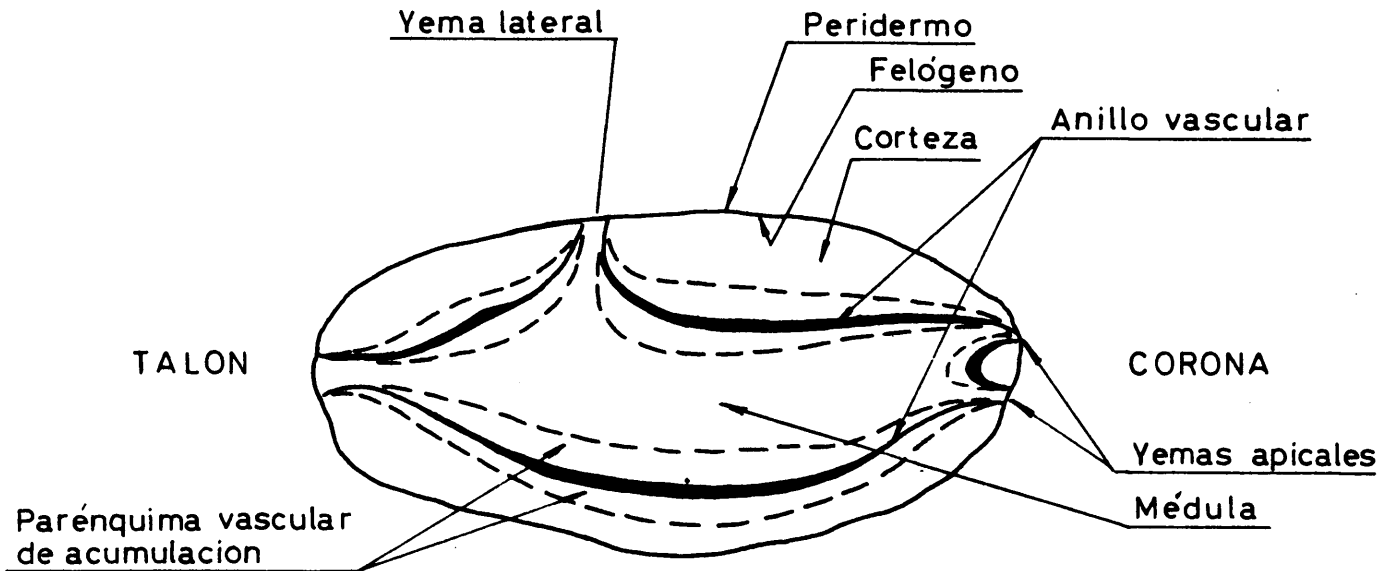


Fig. 3.- Esquema de la anatomía interna de un tubérculo.

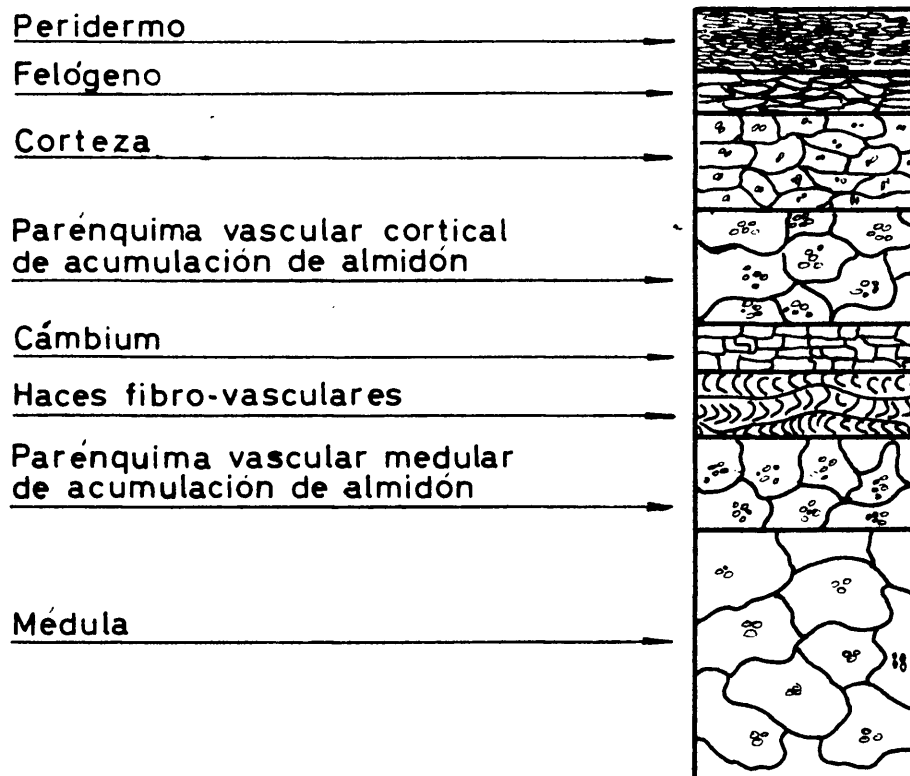


Fig. 4.- Esquema de la sucesión en profundidad de los tejidos de un tubérculo.

Cada "ojo" ocupa una depresión transversal cuyo borde inferior, más sobresaliente, es una hoja reducida al estado de escama, siendo ésta la que corresponde a las brácteas de las ramificaciones del tallo (fig. 2).

Cada "ojo" contiene como mínimo 3 yemas, habiendo una central que tiende a un mayor desarrollo y se corresponde con la apical del brote axilar.

El hecho de existir varias yemas en un "ojo" procedentes todas del mismo brote, es una consecuencia de las alteraciones fisiológicas que se producen en el estolón a lo largo del proceso de tuberización y que conducen a la inhibición del alargamiento de los entrenudos.

Los "ojos", en el tubérculo, están dispuestos en una espiral análoga a la de las yemas del tallo aéreo. Esta espiral, dextrógira o levógira, consta de diferente número de "ojos" según la variedad, y están dispuestos con una filotaxia 5/13.

### 1.2.3. Anatomía interna

Desde el punto de vista anatómico, el tubérculo, presenta una sucesión en profundidad de distintos tejidos procedentes de las modificaciones acaecidas en el estolón inicial (figs. 3 y 4).

En esta sucesión se distingue una primera capa, que no es sino una película suberosa integrada por células algo alargadas, cuyo tamaño aumenta con la profundidad. Este tejido de protección, llamado también piel o peridermo, posee de 6 a 14 capas de células cuya pared está impregnada de suberina, y se forma a partir de una zona generatriz subyacente, el felógeno. Este peridermo sirve para defender al tubérculo del ataque de los microorganismos. Cuando una patata se corta o es

herida mecánicamente, se produce una proliferación de células en la superficie del corte, formándose el llamado "wound periderm", el cual es más efectivo que el peridermo normal en lo que se refiere a las funciones de defensa. La formación del "wound periderm" se retarda o impide en los tubérculos que han sido expuestos a la irradiación gamma, o que han sido tratados con ciertos inhibidores químicos (Rubin y Metlitskii 1958; Waggoner 1965; Metlitskii y Ozeretskivskaya 1968). Debajo de esta piel (o peridermo) se encuentra el felógeno en forma de una delgada capa de células más o menos poligonales.

Inmediatamente después está la corteza, o capa parenquimática integrada por células más grandes que las de las zonas anteriores, ricas en proteínas y pobres en almidón, que contienen el pigmento al cual se debe la coloración exterior del tubérculo.

La corteza y la piel son capas ricas en compuestos fenólicos tales como el ácido clorogénico y el cafeico. Estas capas son también ricas en vitaminas tales como la tiamina y riboflavina, en lípidos, en pigmentos clorofílicos y antociánicos, en auxinas y en ciertos precursores del ácido indolacético. Particularmente, tienen un contenido variable en giberelinas y en un conjunto de sustancias inhibitoras del crecimiento conocidas bajo el nombre de "complejo B-inhibidor", que probablemente está compuesto de ácido abscísico (ABA), ácido salicílico y ácido cumárico entre otros. Este complejo parece ser el responsable de muchas de las fases fisiológicas por las que atraviesa el tubérculo desde la recolección hasta el momento de su brotación, como se verá en el capítulo dedicado a la fisiología del tubérculo.

El parénquima vascular cortical de acumulación, es un te-

jido rico en almidón, y está en contacto con la parte interior de la corteza. Debajo de esta zona, se encuentra el llamado "anillo vascular" procedente del procámbium y del que se diferencian el xilema y el floema primarios. La distribución de xilema y floema en las solanáceas, tiene la particularidad de que presentan además de un floema externo y un xilema interno, otro floema interno, que se origina algo más tarde que el externo. (Esau 1959; Strasburger y colaboradores 1963). Esta diferenciación de tejidos floemáticos, tanto interna como externamente al xilema, es característica de las solanáceas.

Acompañando al anillo vascular por la parte interna, se encuentra el llamado parénquima vascular medular de acumulación, formado por células grandes y poligonales que contienen almidón. Este almidón se presenta en forma de gránulos oviformes o redondeados de considerable tamaño. En esta zona se encuentra incluida la región floemática interna o zona perimedular, caracterizada por una extensiva diferenciación procambial dentro de este parénquima de almacenamiento.

Por último y ocupando la parte central del tubérculo e irradiando estrechas bandas a cada una de las yemas del mismo, está la médula propiamente dicha que, en ocasiones, ha sido denominada "núcleo acuoso", estando formada por grandes células que contienen menos almidón que las células del área parenquimática vascular tanto cortical como medular.

La distribución de los compuestos químicos en los diferentes tejidos es variable. El almidón o fécula se encuentra acumulado en gran cantidad en las proximidades de los haces vasculares; los azúcares solubles tales como glucosa, fructosa y sacarosa, son más abundantes en la médula que en la corteza y el contenido total de materias nitrogenadas es más abundante en los

tejidos medulares que en los corticales (Michiels 1967).

La composición del tubérculo expresada en tanto por ciento de peso fresco, es la siguiente:

Agua . . . . .	63,2	a	86,9
Materia seca . . . . .	13,1	a	36,8
Almidón . . . . .	8,0	a	29,4
Azúcares solubles . . . . .	0,05	a	8,0
Proteínas . . . . .	0,7	a	4,6
Materia celulósica . . . . .	0,2	a	3,5
Lípidos . . . . .	0,04	a	1,0
Cenizas . . . . .	0,4	a	1,9

#### 1.2.4. Anatomía de la yema durmiente

Los comúnmente denominados "ojos" de la patata, son brotes en potencia, compuestos de un ápice con su meristemo terminal, sus primordios foliares, y sus yemas axilares.

El ápice del brote de patata es un meristemo en el que no existe una clara distinción entre dermatógeno, periblema y pleroma en el sentido de Hanstein (Esau 1959), mientras que por el contrario, sí se observan claramente las dos zonas tisulares de Schmidt (Esau 1959) constituidas por una primera capa de una o más filas periféricas de células que se perpetúan por continua división, denominadas colectivamente, túnica, y por un corpus que forma el nucleo interno del punto vegetativo.

La distinción esencial entre las dos regiones, se basa en sus distintos modos de división celular. Las capas de la túnica, presentan fundamentalmente divisiones anticlinales, experimentando



así un crecimiento en superficie, aunque también pueden en algunas ocasiones, dividirse periclinalmente como, por ejemplo, durante la formación de las hojas. Por el contrario, las células del corpus, se dividen en todas las direcciones aumentando así el volumen del punto vegetativo. Cada capa de la túnica, tiene sus propias células iniciales, mientras que el corpus posee una sola capa de dichas iniciales (Fig. 5).

Aunque la epidermis se forma normalmente a partir de la capa superior de la túnica, los tejidos subyacentes, pueden originarse de la túnica, del corpus, o de ambos.

Esau (1959), refiriéndose a un trabajo de Baker de 1943, dice que el género *Solanum*, posee tres capas de células iniciales, dos correspondientes a la túnica y una al corpus, que es la que origina las demás en profundidad.

Sussex (1955), también dijo que estos meristemos poseen inicialmente dos capas en la túnica, y un corpus no estratificado debajo, cuyas capas superficiales se van progresivamente estratificando, conforme la yema se va alargando.

También Rubin y Metlitskii (1958) hicieron alusión al meristemo apical de las patatas, como formado por una túnica y un corpus.

Goodwin (1967) en los ápices de las yemas de patata de la variedad "Arran Pilot", distingue un tipo de organización túnica-corpus, con dos capas de células en la túnica y un corpus de cuatro a seis células en profundidad. Las células de la parte central, dice, son isodiamétricas, y forman la cúpula meristemática, tienen un diámetro de aproximadamente  $10\mu$  y no aparecen nunca excesivamente teñidas. Los primordios foliares se desarrollan a

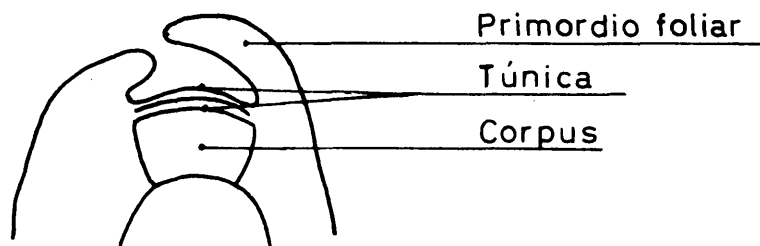


Fig. 5.- Esquema de la organización túnica-corpus del brote de patata.

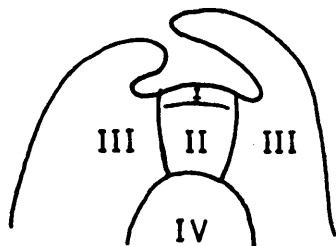


Fig. 6.- Modelo de zonación de Clowes (explicación en el texto).

los lados de la cúpula meristemática y se hacen visibles al principio como un grupo de células más pequeñas y densamente teñidas, con un diámetro de aproximadamente  $8\mu$ . Estas células pequeñas, se unen al cilindro continuo de las células alargadas del procámbium, a una distancia de aproximadamente  $80\mu$  por debajo de la cúpula meristemática. Este mismo autor encontró un aumento en el diámetro de las células, tanto del centro como de la parte periférica de las yemas, dando por último una definición de las distintas regiones del brote, atendiendo entre otras razones a los tamaños de las células que las componen. Así, el procámbium está formado por células que tienen  $8\mu$  de sección transversal y de  $10 - 30 \mu$  de longitud; este procámbium separa internamente a la médula y externamente a la corteza, formadas ambas por células cuyo diámetro es de alrededor de  $10\mu$  en el meristemo apical y de unas  $35\mu$  en la base de la yema enteramente desarrollada.

Los datos de los que se ha ido disponiendo, señalan que el ápice de patata puede presentar una disposición en zonas, semejante a la "zonation patterns" de Clowes (1961) que se representa en la figura 6 y en la que se distinguen las siguientes zonas:

- La zona I que está formada por las porciones apicales de las capas de la túnica.
- La zona II constituida por un grupo de células situadas justamente debajo de la zona I y confinadas también a la región apical. Las células de las zonas I y II se presentan siempre ligeramente teñidas.
- La zona III consiste en un anillo de células que rodean a la zona IV. Normalmente son pequeñas, se tiñen densamente y parecen dividirse muy frecuentemente a juzgar por el

número de mitosis que se ha visto en ellas.

-La zona IV se encuentra directamente debajo de la zona II y está formada por células situadas en fila. Normalmente se le llama meristemo en fila (rib-meristem), ya que estas filas longitudinales se ven muy apreciablemente, sobre todo en los tallos largos, cuyas células suelen ser grandes y vacuoladas.

Las células de la zona I se dividen, como norma, anticlinalmente, aunque en algunas ocasiones lo pueden hacer periclinalmente. Las de la zona II se dividen en todos los planos y contribuyen a formar las zonas III y IV. Las de la zona III se dividen sobre todo periclinalmente, aunque también lo pueden hacer en otros planos. Las de la zona IV se dividen principalmente en sentido transversal aunque también lo pueden hacer longitudinalmente.

La zona II es referida normalmente al grupo del corpus por numerosos autores, los cuales incluyen toda la zona I en la túnica.

Posteriormente Leshem y Clowes (1972), trabajando con patatas de la variedad "Majestic", observaron la proporción de mitosis en las distintas regiones del ápice, medidas mediante la acumulación de metafases bajo la influencia de la colchicina, resultando la zonación que viene representada en la figura 7:

En la zona I o zona de la cúpula, el ciclo mitótico de las células tiene una duración de 117 horas.

En la zona II o zona de los flancos, las células tienen un ciclo mitótico de 74 horas.

La zona III o zona medular, es la que tiene menor propor-

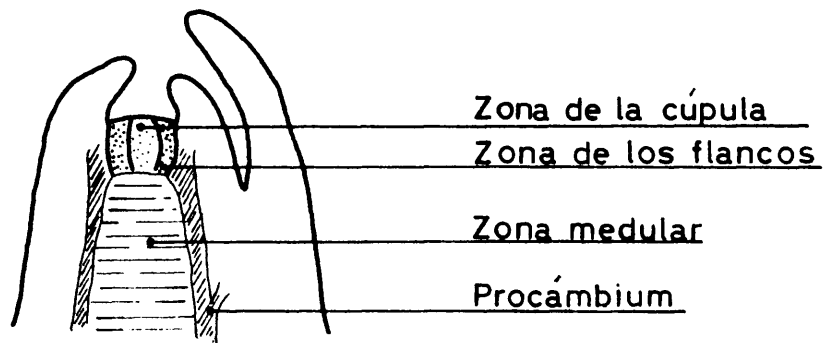


Fig. 7.- Sección longitudinal de un ápice de patata  
(Según Leshem y Clowes 1972).

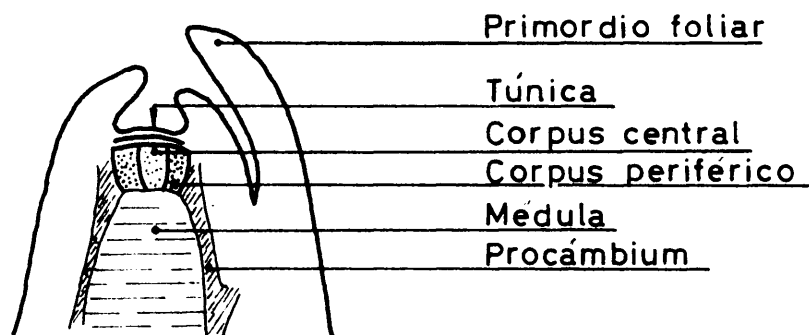


Fig. 8.- Interpretación personal de la estructura  
de un brote de patata.

ción de mitosis, con un ciclo de 210 horas. Sus células son las de mayor tamaño y están vacuolizadas.

Por último, la zona IV o zona del procámbium, está formada por células muy estrechas que mantienen siempre su apariencia indiferenciada y son las que se dividen más frecuentemente, ya que su ciclo mitótico es de 57 horas.

Así mismo, estos autores encontraron que el ápice de las yemas que estaban brotando posee de 4 a 6 capas de células por encima de la médula y del procámbium.

Los datos obtenidos sobre los valores de la duración del ciclo mitótico en las diferentes zonas del meristemo de la yema de patata, son semejantes a las encontradas por Corson (1969) en los ápices de *Datura*, en los que las células de los flancos se dividen 2,1 veces más rápidamente que las de la cúpula. En *Solanum*, las células de los flancos se dividen 1,6 veces más rápidamente que las de la cúspide (Leshem y Clowes 1972).

Estudios autorradiográficos de meristemos apicales marcados con timidina  $^3\text{H}$  y adenina  $^3\text{H}$ , han revelado que, la síntesis de RNA y DNA, es más activa en la zona periférica o zona de los flancos, que en el centro del meristemo apical y que en la zona del "rib-meristem" (Maksymowych 1973).

Teniendo en cuenta las observaciones anteriormente realizadas por los distintos autores, y tras el estudio del material con el que hemos trabajado, podemos interpretar la estructura de la yema de patata, según se representa en el esquema de la figura 8 y en el que se puede distinguir una túnica de dos capas de células y un corpus de 6 a 8 filas de células en profundidad, siendo éstas, más pequeñas y redondeadas que las de la túnica.

Topográficamente, podríamos dividir el corpus en una zona

central, localizada en la cúpula del ápice, y una zona periférica situada en los flancos y formada por células más pequeñas que las de la zona central y más densamente teñidas; éstas, parecen dividirse más frecuentemente que las apicales centrales y constituyen el meristemo responsable directamente de la iniciación de los primordios foliares. La producción de estos primordios debe de estar relacionada con la mayor actividad mitótica de esta zona periférica.

Inmediatamente debajo de la región apical central, se encuentra la zona medular o zona del "rib-meristem" de Clowes (1961). Sus células son mucho más grandes, vacuolizadas y con gran cantidad de granos de almidón. En las yemas más desarrolladas, esta zona es más alargada y forma un eje central en el que se nota una preponderancia de divisiones periclinales, dando como resultado la formación de filas de células, típicas de este meristemo. Su ciclo mitótico es el de más duración (Leshem y Clowes 1972). A ambos lados del "rib-meristem", se hallan a manera de cordones, las células del procámbium, muy alargadas y estrechas, que son las que más frecuentemente se dividen de todo el ápice (Leshem y Clowes 1972).

#### 1.2.5. Fisiología del tubérculo después de la recolección

El tubérculo recién recolectado está incapacitado para brotar y es preciso que transcurra un cierto tiempo para que alcance la madurez fisiológica necesaria para la brotación. Una vez alcanzada ésta, el que brote o no el tubérculo, dependerá principalmente de las condiciones externas a él.

Por tanto, podemos distinguir dos épocas en el período que media entre la recolección y la brotación.

El primer período denominado de reposo, corresponde al estado en que se encuentran los tubérculos al recolectarlos, y en el que no pueden germinar aunque se les coloque en condiciones óptimas de luz, temperatura y humedad para hacerlo.

En el segundo período llamado de dormición, los tubérculos han alcanzado ya la madurez fisiológica para la brotación, pero continúan en estado latente, debido a las condiciones externas desfavorables, principalmente, bajas temperaturas.

En la primera época son, pues, causas "endógenas" las responsables de la inhibición de la brotación, mientras que en el segundo período son las causas "externas" las responsables de que no se produzca.

Durante el período de reposo, por analogía a lo establecido por Amen (1968) para las semillas, se pueden considerar las tres fases siguientes:

Una primera, llamada de "inducción", caracterizada porque prácticamente se detiene el metabolismo y hay una sorprendente disminución en el nivel de las sustancias estimuladoras del crecimiento, así como una elevada concentración de sustancias inhibidoras del mismo.

Una segunda fase es la de "mantenimiento", en la que el metabolismo sigue siendo muy bajo, como en el caso anterior, y la cantidad de sustancias inhibidoras es todavía muy alta.

La tercera fase es la de "finalización". En ésta, comienza a aumentar la concentración de sustancias promovedoras del crecimiento y disminuye la de las sustancias inhibidoras, incrementándose el metabolismo.



Concluídas estas fases, comienza el período de dormición en el que las yemas son especialmente sensibles a las condiciones ambientales, y si éstas son favorables, se producirá la brotación, caracterizada no solamente por un incremento, sino por una saturación de sustancias estimuladoras del crecimiento, acompañada de una exaltación de la actividad enzimática.

El reposo ó la brotación de las yemas, está pues regulado por un balance entre sustancias inhibidoras y promovedoras; balance que se inclina a favor de las primeras durante el reposo, y a favor de las segundas durante la brotación.

#### 1.2.5.1. Principales reguladores endógenos implicados en el período de latencia de los tubérculos.

##### 1.2.5.1.1. Complejo B-inhibidor

La presencia de sustancias inhibidoras del crecimiento en los tubérculos de patata en reposo, es conocida desde hace bastante tiempo. Hemberg en 1949 publicó un artículo en que, resumiendo sus trabajos anteriores, llegaba a la conclusión de la existencia de sustancias inhibidoras en los extractos procedentes de patatas en reposo.

Posteriormente, el mismo autor (Hemberg 1954) encontró que las sustancias inhibidoras estaban localizadas fundamentalmente en la piel del tubérculo en reposo, y se extraían totalmente en la fracción ácida. Estas sustancias, por el contrario, no se encontraban en los tubérculos que habían salido de su estado de reposo.

Bennet-Clark y Kefford (1953), encontraron analizando cromatográficamente los extractos de tejidos de muchas plantas, la presencia de un conjunto de sustancias inhibitoras al que llamaron B-inhibidor, caracterizado por tener un valor del Rf comprendido entre 0,7 y 0,9, en cromatografías de papel desarrolladas con una mezcla de isopropanol-amoniaco-agua (10:1:1).

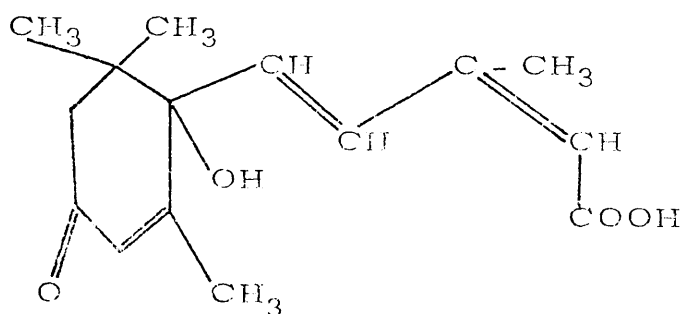
Blommaert (1954), Hemberg (1958) y otros autores, encontraron que el complejo inhibidor presente en la fracción ácida de los extractos de la piel de las patatas en reposo, coincidía con el inhibidor-B encontrado por Bennet-Clark y Kefford (1953) en distintas plantas.

Sobre la naturaleza del complejo B-inhibidor se han realizado diferentes trabajos. Housley y Taylor (1958) sugirieron que el inhibidor B de las patatas en estado de reposo, podría estar formado por el ácido azelaico y una sustancia a la que llamaron "ácido A".

En 1959, Phillips y Wareing, encontraron en las hojas de sicomoro, un inhibidor que inducía estados de reposo en yemas de diferentes plantas, y al que llamaron "dormina".

Más tarde, Cornforth y colaboradores (1965), aislaron la "dormina" de las hojas del sicomoro y demostraron que era idéntica al ácido abscísico (ABA) (o abscisin II).

Según Addicot y Lyon (1969), el ABA es probablemente uno de los inhibidores más importantes y difundidos en las plantas



El ABA al que anteriormente Addicot había denominado Abscisin II, resultó ser idéntico a la dormina de Cornforth. Por tanto, dormina y abscisin II, son dos denominaciones diferentes de una misma sustancia, el ácido abscísico (ABA) (Hill 1973).

El ABA está caracterizado por su capacidad para inhibir muchos fenómenos de crecimiento en las plantas, pero tal vez su mayor importancia estriba en su asociación con el estado de reposo de las yemas (Hill 1973).

Cornforth y colaboradores (1966) demostraron la presencia de ABA en muchas plantas, entre ellas en los tubérculos de patata en reposo, y Milborrow (1967) afirmó que el efecto inhibidor que posee el B-inhibidor, parece ser debido principalmente al ácido abscísico.

Posteriormente, por métodos cromatográficos, el complejo  $\beta$ -inhibidor extraído de patatas en estado de reposo, fué separado por Holst (1971) en tres componentes activos: uno de ellos es una sustancia fenólica, con débil efecto inhibidor y que tiene mucho de común con el ácido salicílico, y las otras dos, contribuyen igualmente al efecto inhibitorio, siendo una de ellas, probablemente, el ácido abscísico.

Ahora bien, no solamente por cromatografía se ha comprobado que el complejo  $\beta$ -inhibidor es la suma de muchas sustancias, sino que comparándolo biológicamente con el ABA, resulta ser el complejo  $\beta$ -inhibidor, mucho más activo.

Holst (1971) comparó el efecto del ABA con el

efecto inhibitorio producido por el complejo  $\beta$ -inhibidor extraído de la piel de los tubérculos de patata cuando estaban en su estado de reposo, mediante el test del coleoptilo de Avena. Las curvas de respuesta a la dosis demostraron que el  $\beta$ -inhibidor era capaz de producir una inhibición total del crecimiento, mientras que el ABA sólo, nunca produjo una inhibición total, aunque la concentración de este último fuera muy elevada; esto indica la presencia de más de una sustancia inhibidora en el complejo  $\beta$ , además del ácido abscísico.

Esta idea se confirma en los experimentos hechos por Hemberg (1967a) en los que encontró que el ABA inhibe claramente la actividad de la  $\alpha$ -amilasa, pero no la de la  $\beta$ -amilasa. Si se comparan estos últimos resultados con los obtenidos por Hemberg y Larsson en 1961, en los que demostraban que el inhibidor  $\beta$  procedente de tubérculos de patata en reposo, inhibía la actividad de la  $\alpha$  y de la  $\beta$ -amilasa, se deduce fácilmente que el complejo  $\beta$  debe de estar formado por una ó más de una sustancia inhibidora además del ABA.

Estos mismos autores (Hemberg y Larsson 1961) comprobaron que los ácidos salicílico y transcinámico producen la inhibición de la síntesis de la  $\alpha$ -amilasa.

La distribución en superficie del  $\beta$ -inhibidor en la piel de los tubérculos en reposo, no es uniforme. Hemberg y Orvelid (1967) cuantificaron, a diferentes intervalos del estado de reposo, el contenido en complejo  $\beta$ -inhibidor de los extractos de piel de la parte apical de los tubérculos, y lo compararon con el de la parte basal de los mismos. Los resultados que obtuvieron revelan que, durante el principio y hasta la mitad del período de reposo, el contenido en  $\beta$ -inhibidor de la parte apical y

basal de los tubérculos, fué análogo; ahora bien, al final del período de reposo, los extractos de la parte apical, contenían más inhibidor que los de la parte basal.

Otra de las pruebas sobre la localización del complejo  $\beta$ -inhibidor en la piel de las patatas, es el hecho de que al pelarlas o cortarlas, se rompe su estado de reposo, bien por la eliminación de grandes cantidades de sustancias inhibitoras producida al pelarlas o bien por la destrucción de estas sustancias después de los cortes (Hemberg 1967 b).

El contenido en  $\beta$ -inhibidor no sólo varía en la superficie del tubérculo, sino también con el tiempo.

Ya en 1952, Hemberg había observado que las sustancias inhibitoras de la piel de las patatas en reposo, desaparecían cuando éste finalizaba. Más tarde, en 1958, Hemberg obtuvo, a lo largo del período de reposo, diferentes cromatogramas del  $\beta$ -inhibidor presente en la piel de los tubérculos; las cantidades de  $\beta$ -inhibidor obtenidas en los diferentes momentos, las sometió al bioensayo del test de crecimiento del coleotilo del trigo; trabajó con tres variedades de patata y obtuvo en todas ellas claramente el resultado de que, el contenido en  $\beta$ -inhibidor es máximo al principio del estado de reposo, pero, conforme éste va avanzando, el contenido en inhibidor va disminuyendo hasta que desaparece justamente cuando el período de reposo ha acabado, es decir, al comienzo de la brotación.

Dupuy y Usciati (1966) también comprobaron la variación del poder inhibitorio de los extractos de patata a lo largo del período de conservación de los tubérculos; para ello,

observaron el crecimiento de *Escherichia coli* en medios de cultivo adicionados con extractos de la piel de las patatas, obteniendo el resultado de que estos extractos poseían después de la recolección un gran poder inhibitorio, poder que iba desapareciendo a medida que el tubérculo se iba acercando a su momento de brotación, tiempo en el que desaparece por completo este poder de inhibición. Acharcaban Dupuy y Usciatí estos resultados a la presencia de algunas sustancias químicas, quizás de tipo polifenólico.

El hecho de que el  $\beta$ -inhibidor sea responsable del mantenimiento del estado de reposo de los tubérculos y como consecuencia, impida la brotación, viene apoyado además, por las experiencias de Blumenthal-Goldschmidt y Rappaport (1965) al demostrar que cuando se aplicaba B-inhibidor procedente de tubérculos en reposo a otros trozos de tubérculos, se inhibía la brotación de estos últimos; igualmente, aplicaciones de ABA, también inhibían la germinación de tales yemas.

Walker (1968) también prolongó el período de reposo de los tubérculos al aplicar a éstos el complejo  $\beta$ -inhibidor procedente de la piel de otras patatas en reposo.

El-Antably y colaboradores (1967) demostraron que el ácido abscísico inhibía el crecimiento de las yemas que se encontraban sobre tubérculos enteros que habían finalizado ya su estado de reposo, pero que, en cambio, era menos efectivo cuando se aplicaba sobre tubérculos partidos.

Madison y Rappaport (1968) y Van Es y Hartmans (1969) también encontraron que el ácido abscísico inhibe el crecimiento de las yemas sobre trozos de tubérculos.

Marinos y Hemberg (1960), estudiando la acción del  $\beta$ -inhibidor de las patatas sobre la respiración de segmentos de coleoptilo de Avena y sobre discos de tubérculos de patata, observaron que el inhibidor- $\beta$  no solamente inhibe el crecimiento de los segmentos de Avena, sino que también incrementa la respiración de los tejidos tanto de patata como de Avena. Ahora bien, concentraciones muy altas de  $\beta$ -inhibidor, podían inhibir la absorción de oxígeno. Por otra parte, los ácidos salicílico y transcinámico, probables componentes del  $\beta$ -inhibidor, también inhibían el crecimiento de los coleoptilos y estimulaban su respiración. Además, el  $\beta$ -inhibidor reprimía la absorción de fosfato inorgánico en los discos de patata.

Por esta razón, Marinos y Hemberg (1960) supusieron que el inhibidor- $\beta$  actuaba probablemente como un inhibidor de la fosforilación que se efectúa durante el transporte de electrones en la oxidación biológica y como consecuencia privaba al tejido de la energía (ATP) necesaria para que tuvieran lugar la serie de reacciones asociadas con el crecimiento.

De todo lo anteriormente expuesto podemos llegar a las siguientes conclusiones:

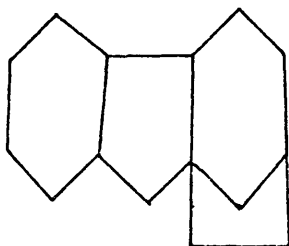
- a) El período de reposo de los tubérculos de patata debe de estar marcado, entre otras causas, por la presencia de sustancias inhibitoras tales como el complejo  $\beta$ -inhibidor.
- b) El complejo  $\beta$ -inhibidor se encuentra localizado en la piel de los tubérculos.

- c) La concentración del complejo va variando a lo largo de dicho período de reposo, de tal manera que al principio de éste, su contenido es máximo, para después, conforme avanza el período, ir disminuyendo hasta desaparecer; momento que coincide con la terminación del reposo.
- d) En la composición del complejo  $\beta$ , debe estar presente además del ABA como compuesto más importante, otros ácidos tales como el salicílico, cumárico, cinámico, transcinámico y azelaico.

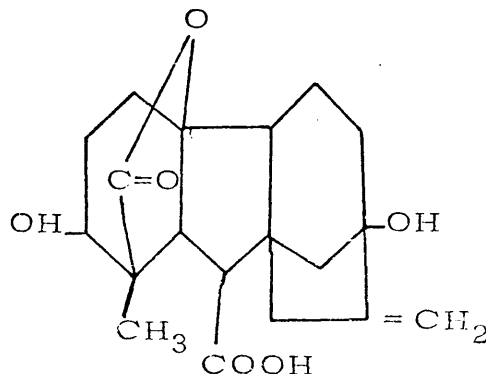
#### 1.2.5.1.2. Giberelinas

Las giberelinas son unas sustancias químicamente relacionadas con el ácido giberélico (AG), el cual se descubrió inicialmente como un producto procedente del metabolismo del hongo *Gibberella fujikuroi* (Saw) Wr.

Las moléculas de las giberelinas tienen como núcleo base el esqueleto del gibano



Esqueleto del gibano



Acido giberélico (AG)



Entre las propiedades de la acción de las giberelinas sobre las plantas, está la inducción del alargamiento de tallos y la ruptura de los estados de reposo de semillas y yemas.

El mecanismo de acción de las giberelinas todavía no está conocido completamente. Se tiene evidencia de que una de las formas de actuación, consiste en la desrepresión de genes que codifican la síntesis de enzimas hidrolíticas tales como amilasas, proteasas y fosfatasas principalmente.

Rappaport y Smith (1962) en una revisión de trabajos anteriores sobre la presencia de giberelinas naturales en las patatas, encontraron que la concentración de giberelinas siempre era más elevada en la piel de los tubérculos que en el interior, y que además, el contenido en giberelinas endógenas durante el período de reposo era muy pequeño, pero aumentaba rápidamente al finalizar éste, es decir, al acercarse la brotación.

También otros autores han encontrado giberelinas y sustancias de acción análoga en extractos de la piel de los tubérculos brotados y otras partes de la planta (Hayashi y Rappaport 1962, 1965 y 1966; Hayashi, Blumenthal-Goldschmidt y Rappaport 1962; Wheeler y Humphries 1963).

En el trabajo de Hayashi y Rappaport (1962), se observó que en los extractos de peladuras de tubérculos brotados, había actividad giberelínica tanto en la fracción ácida como en la neutra. En la fracción neutra hubo esta actividad en las sustancias con un  $R_f$  comprendido entre 0,4-0,5 y 0,6-0,7. La fracción ácida F II extraída a  $Ph 5$

exhibió actividad giberelínica para los compuestos de Rf comprendido entre 0,5-0,7. En la fracción ácida F III extraída a Ph 2,5 se detectó la presencia de las gibberelinas AG<sub>1</sub> y AG<sub>3</sub>.

La aplicación de ácido giberélico exógeno a los tubérculos de patata, fué hecha ya en 1957 por Rappaport y colaboradores, los cuales comprobaron que la simple inmersión de los tubérculos recién recolectados durante cinco minutos en una solución que contenía concentraciones tan pequeñas como 1 p.p.m. de AG, ya inducía la brotación de los mismos, es decir, se podía romper su estado de reposo.

Más tarde, en 1958, Lippert, Rappaport y Timm, también hallaron que el AG inducía una brotación más precoz.

Timm y colaboradores (1960) hicieron un estudio exhaustivo sobre el efecto del AG sobre diversas variedades de patata, llegando a la conclusión de que el AG acelera y promueve la brotación de los tubérculos, dependiendo esta brotación de la concentración, de la duración del tratamiento, de la temperatura de almacenamiento de los tubérculos y del tiempo transcurrido desde la recolección hasta el momento de efectuar la aplicación del AG. Concentraciones de hasta 5 p.p.m. favorecen la brotación, pero, concentraciones más altas pueden ocasionar efectos desfavorables tales como la elongación excesiva de los entrenudos del tallo, retraso en el desarrollo de las hojas, clorosis, excesiva elongación de los estolones, retraso de la tuberización y efectos persistentes sobre el tamaño y forma de los nuevos tubérculos. La temperatura de almacenamiento también es importante, habiéndose comprobado que el

AG favorece más la brotación a 25°C que a 5°C, y se incrementa considerablemente el porcentaje de tubérculos brotados a 25°C. Por otra parte y considerando la edad del tubérculo, se vió que el efecto estimulador del AG va decreciendo a medida que éste va envejeciendo.

Al igual que Timm y colaboradores, Claver (1960) también encontró que dosis elevadas de AG pueden producir malformaciones en los tubérculos.

Experimentos posteriores de Timm y colaboradores (1962), de Choudhuri y Ghose (1963) y de Blumenthal-Goldschmidt y Rappaport (1965), siguieron demostrando y comprobando que el AG era capaz de romper el estado de reposo de los tubérculos recién recolectados, induciéndoles la brotación.

Oshima y Livingston (1963), trabajando en cultivo de tejidos vegetales, encontraron que concentraciones de 25, 50 y 100 p.p.m. de ácido giberélico, estimulaban tanto la iniciación como la elongación de las yemas de los tubérculos. Resultados semejantes fueron obtenidos por Morell y Muller (1964) también en cultivo de tejidos.

Smith y Rappaport (1965) también observaron que en general, incrementando la temperatura de almacenamiento y aumentando la concentración de AG, disminuía el tiempo necesario para la brotación de los tubérculos.

Bruinsma y Swart (1970), apoyándose en anteriores experiencias (Bruinsma y colaboradores 1967) y utilizando variedades diferentes de patata tales como " Bintje ", " Libertas ", " Alpha ", " Record ", " Woudster " y " Gineke ", sumergieron los

tubérculos (cortados) de estas variedades, en soluciones de AG de 1 a 5 p.p.m., llegando a la conclusión de que, no solamente se rompía el estado de reposo con la subsiguiente brotación, sino que también se incrementaba el crecimiento de los brotes.

La ruptura del reposo de las yemas, también puede ocurrir como consecuencia de heridas o cortes practicados al tubérculo, ya que éstos, estimulan la síntesis de giberelinas endógenas (Rappaport y Sachs 1967). Estos mismos autores encontraron que la cantidad de tales sustancias en los tejidos recién cortados, era en realidad pequeña, pero a las 12 horas después de practicados los cortes, se incrementaba hasta un nivel suficiente como para provocar la aceleración de la brotación.

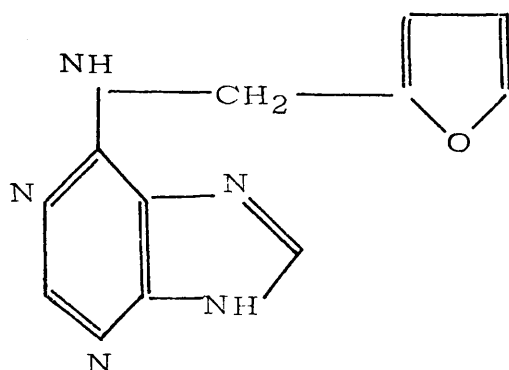
Posteriormente, Madison y Rappaport (1968) confirmaron la producción de giberelinas en los cortes periféricos de patatas, encontrando que el tratamiento de los trozos de tubérculos con AMO - 1618 (un inhibidor de la síntesis de giberelinas) bloqueaba la brotación, pero que la adición de bajas dosis de AG, anulaba esta inhibición.

El ácido giberélico, además de promover la brotación, incrementa el número de tallos y el crecimiento de los mismos (Wilkins 1958; Timm y colaboradores 1962; Smeltzer y Mackay 1963; Tizio 1964 y 1966 y Bruinsma y Swart 1970).

### 1.2.5.1.3. Citocininas

Las citocininas son sustancias derivadas de la adenina, y están caracterizadas principalmente por su capacidad para promover la división celular en cultivos de tejidos vegetales realizados en medios artificiales, y especialmente por su propiedad de alterar la diferenciación de tales tejidos.

La citocinina más conocida es la cinetina, que, hasta ahora, no ha sido encontrada naturalmente en las plantas,



6-Furfuril amino purina (kinetina).

Sin embargo, sustancias con actividad análoga a la de la cinetina se han encontrado en numerosas ocasiones en los extractos procedentes de material vegetal.

Aunque la mayoría de las sustancias aceptadas como citocininas son moléculas derivadas de la adenina, hay también otras sustancias con actividad cito-cinínica que no poseen esa misma estructura.

Se conoce poco sobre el modo de acción de las citocininas, aunque parece cierto que su forma de actuar está asociada con la síntesis de RNA y proteína en la célula (Skoog y Armstrong 1970).

Las citocininas exógenas pueden, en algunos casos, romper el reposo de las yemas, y el trabajo de Domanski y Kozlowski (1967) sobre yemas de abedules y chopos, ha sugerido que las citocininas endógenas juegan un importante papel en la ruptura del reposo, puesto que estos autores encontraron en dichas yemas, cambios en los niveles de sustancias endógenas de actividad análoga a las citocininas, apreciando un aumento de estas sustancias a medida que finalizaba el período de reposo.

En el caso de las yemas de los tubérculos de patata, Dutta y Kaley (1968) y Dutta y Chakraborty (1968) demostraron con patatas de las variedades "Up-to-date" y "Kufri-Sindhuri," que si se sumergían durante 18 horas en distintas soluciones de adenina, guanina o xantina en la concentración de 10 mg/l, se rompía su estado de reposo a los cinco días después de administrado el tratamiento; estas purinas resultaron eficaces tanto si se aplicaban sobre tubérculos intactos como sobre tubérculos partidos. Los mismos autores, al comparar estos resultados con los obtenidos utilizando otros agentes que también producen la ruptura del reposo, tales como el 2-cloroetanol y la tiourea, dedujeron que, de todos los tratamientos, la xantina fué el que dió mejor resultado.

Hemberg (1970) trabajando con tubérculos de la variedad "Majestic," conocidos por tener un largo período de reposo,

realizó diversos tratamientos con citocininas (kinetina y zeatina) a concentraciones de 50 y 100 mg/l durante 6-24 horas, y observó la ruptura rápida del período de reposo, ya que las yemas brotaron a los dos ó tres días del tratamiento.

Por tanto, podemos concluir que, a pesar de la poca información que existe sobre la influencia de las citocininas en la brotación de las yemas de patata, pueden considerarse a estas sustancias como necesarias para la estimulación de este proceso.

#### 1.2.5.1.4. Auxinas

El período de reposo de los tubérculos no parece estar regulado por las auxinas (Côme 1971 y Rappaport 1973).

La influencia y evolución de estos compuestos en la brotación de la patata ha sido estudiada por algunos autores, pero no han llegado a resultados concluyentes (Lindblom 1968; Bielińska-Czarnecka y Domańska 1970).

Actualmente existe gran confusión sobre el papel que juegan los compuestos de actividad auxínica a lo largo del período de latencia de los tubérculos de patata, siendo de esperar que en los próximos años se profundice en el conocimiento de su función.

#### 1.2.5.2. Interacción de los distintos reguladores endógenos durante el período de latencia

El estado de reposo de los tubérculos de patata, es decir, el hecho de que sus yemas sean incapaces de brotar después de la recolección, es un fenómeno cuyo mecanismo no está todavía explicado completamente.

La hipótesis más generalizada y aceptada para explicar este fenómeno es la que atribuye el período de reposo a la presencia de inhibidores del crecimiento en la piel de los tubérculos; estos inhibidores constituyen el llamado complejo  $\beta$ -inhibidor de Bennet-Clark y Kefford, y están interaccionando con otras sustancias promotoras del crecimiento, tales como las giberelinas y las citocininas, resultando de esta interacción la aptitud del tubérculo para brotar o no.

Uno de los principales componentes del complejo  $\beta$ -inhibidor, como ya se dijo anteriormente, es el ABA, que abunda en la piel de los tubérculos recién recolectados. A medida que va transcurriendo el tiempo, disminuye la concentración de ABA y van apareciendo y aumentando progresivamente sustancias de tipo giberelínico que dan como resultado la finalización del período de reposo.

En 1961, Boo, encontró que cuando los tubérculos en estado de reposo eran tratados con ácido giberélico, el complejo  $\beta$ -inhibidor desaparecía de la piel a los 6 ó 10 días después del tratamiento.

Bruinsma (1962) dedujo también que el estado de reposo de los tubérculos dependía de un balance entre las



sustancias inhibidoras por una parte y las promotoras por otra. En este balance, el ácido abscísico parece ser el principal factor que mantiene el estado de reposo (Milbrow 1967); en cambio las giberelinas, interrumpen el reposo por su modo de acción hormonal e inducen y promueven el crecimiento de las yemas (Bruinsma y Swart 1970).

En yemas escindidas procedentes de tubérculos en reposo, el efecto inhibidor de la brotación producido por el complejo  $\beta$ , se anuló parcialmente gracias a la aplicación de AG exógeno (Blumenthal-Goldschmidt y Rappaport 1965; Madison y Rappaport 1968). En tubérculos intactos en cambio, el AG sólo contrarrestó ligeramente la inhibición producida por el ABA (El Antably, Wareing y Hillman 1967). Las citocininas también rompen el período de reposo y hacen desaparecer simultáneamente el complejo  $\beta$ -inhibidor.

Palmer y Smith (1969) encontraron que la inhibición causada en las patatas por el ABA, era anulada por la cinetina.

Hemberg (1970) tratando los tubérculos con cinetina y zeatina, observó claramente que las citocininas no solamente rompen el período de reposo, sino que también ocasionan una reducción del contenido en complejo  $\beta$ -inhibidor en la piel de las patatas.

En 1968 Sankhla y Sankhla dijeron que la inhibición producida por el ABA, puede ser contrarrestada totalmente por la cinetina y ligeramente por la giberelina a bajas con-

centraciones.

Khan (1968), en semillas de lechuga, observó que incrementando la concentración de giberelinas no se rompe el efecto inhibitorio del ABA, aunque éste, puede ser anulado por las citoquininas en presencia de bajas concentraciones de AG. Esto le hizo pensar que las giberelinas y las citocininas actúan en diferentes sitios; el AG actuaría como un estímulo para la germinación, promoviéndola, mientras que la acción de las citocininas se limitaría a los lugares de la inhibición. También observó que la estimulación producida por el AG, podía ser anulada por el ABA.

Bewley y Fountain (1972) compararon las acciones del AG, ABA y de las citocininas, benzyladenina (BA) y cinetina, sobre la germinación de semillas de lechuga. En embriones intactos, la gran estimulación de la germinación ocasionada por el AG y la pequeña estimulación debida a las citocininas (BA o cinetina), se anulaba por el ABA. La inhibición producida por éste, no podía ser contrarrestada por un incremento de la concentración de AG o de las citocininas actuando individualmente; sin embargo, si la BA y el AG se añadían juntos en presencia del ABA, la inhibición era anulada completamente. Por el contrario, la adición de cinetina y de ácido giberélico conjuntamente, no producía ningún efecto en cuanto a la supresión de la inhibición producida por el ácido abscísico.

Todavía no está aclarado completamente el nivel de actuación de las giberelinas y del ácido abscísico sobre la síntesis de los ácidos nucleicos. McComb y colaboradores

(1970) apoyan la idea de que las giberelinas pueden acrecentar la actividad de la RNA-polimerasa.

En yemas aisladas procedentes de tubérculos en reposo, Rappaport y Wolff (1968) encontraron que la adición de ácido giberélico, promovía la síntesis de proteínas por efecto de un aumento en la síntesis de ácidos nucleicos. Madison y Rappaport (1968) observaron que, al añadir deoxiadenosina ( un potente inhibidor de la síntesis de DNA) a los tubérculos de patata, se inhibía completamente la brotación,

Shih y Rappaport (1970), en línea con lo anteriormente expuesto, comprobaron que el tratamiento con AG promueve ligeramente la síntesis de DNA y de RNA, mientras que el ácido abscísico bloquea esencialmente tal síntesis, tanto en presencia como en ausencia de ácido giberélico. Estos autores estudiaron el efecto del AG ( $10^{-4}$ M) y del ABA ( $10^{-4}$ M) al ser aplicados separadamente y en conjunto, sobre la incorporación de  $^3\text{H}$ -timidina y  $^3\text{H}$ -uridina al DNA y al RNA de las yemas de tubérculos de patata recién recolectados. La giberelina promovió la síntesis de RNA y de DNA, mientras que el ácido abscísico redujo considerablemente la incorporación tanto de  $^3\text{H}$ -timidina como de  $^3\text{H}$ -uridina, bloqueando por completo la capacidad del ácido giberélico para estimular la síntesis de ácidos nucleicos. Esta síntesis, está asociada con la terminación del reposo de las yemas de patata (Rappaport 1973).

En todos los tratamientos realizados con ácido giberélico por Shih y Rappaport (1970), se observó una estimu-

lación mitótica que comenzó siempre en el procámbium de las yemas. Este mismo fenómeno fué también observado por Lovell y Booth (1967) en brotes de patata y por Tepper y Hollis (1967) en el fresno blanco.

Parece, pues, estar claro que la evolución del tubérculo a lo largo del período de reposo, es la consecuencia de una serie de alteraciones fisiológicas controladas por un balance de sustancias inhibidoras y promotoras del crecimiento. Este balance parece estar inclinado a favor del complejo  $\beta$ -inhibidor inmediatamente después de la recolección, (resultando así un estado de reposo) y a favor de las giberelinas y citocininas al acercarse la brotación.

Podemos por tanto concluir que el complejo  $\beta$ -inhibidor (con el ABA como principal componente) por una parte, y las giberelinas y las citocininas por otra, poseen entre sí mutuas interacciones antagónicas que influyen directamente en los estados de reposo y brotación del tubérculo.

### 1.3. INHIBICION ARTIFICIAL DE LA BROTAION DE TUBERCULOS POR METODOS TRADICIONALES

#### 1.3.1. Utilización del frío

El método más generalizado para el control de la brotación de las patatas es el de refrigeración. Durante muchos años, el único medio disponible para controlar la germinación ha consistido en mantener los almacenes de conservación a una temperatura inferior a 4°C. Esto se lleva a cabo generalmente por el empleo de aire exterior frío, o con el uso de cámaras frigoríficas.

Para evitar que las patatas broten, la temperatura de 4°C debe conseguirse antes de que los tubérculos salgan de su período de reposo, y se ha de mantener durante todo el período de almacenamiento. Este método de control de la brotación exige la instalación de equipos de refrigeración costosos, no sólo desde el punto de vista de la inversión original, sino también por el gasto de funcionamiento.

La temperatura, no sólo afecta a la brotación, sino que también influye muy directamente sobre el grado de putrefacción, respiración y pérdida de agua de las patatas. Cuando los tubérculos han salido de su estado de reposo, el crecimiento de los brotes es muy pequeño si la temperatura se mantiene entre 3°C-4°C, pero si por el contrario la temperatura se eleva, aumenta considerablemente la brotación, respiración, pérdida de humedad y la putrefacción, siendo este

aumento mucho mayor si se llegan a alcanzar los 10°C. Por consiguiente, el control de la temperatura ha de ser muy riguroso si no se quieren obtener grandes pérdidas en la cosecha de patatas.

Además de los problemas de tipo económico, el almacenamiento a bajas temperaturas ocasiona efectos nocivos en la calidad de los tubérculos, ya que se produce un alto contenido en azúcares a partir del almidón.

Sandret y Michiels (1966) dijeron que, debido a la producción de azúcares solubles como consecuencia de la conservación de las patatas en frío (4°C), era necesario antes de ser utilizadas, tenerlas un cierto tiempo a temperatura ordinaria para permitir la reabsorción de una parte de los azúcares solubles acumulados.

Nys (1970) en una comunicación general sobre las patatas a propósito de su conservación mediante el frío, también reafirmó que, desgraciadamente, las bajas temperaturas provocan una importante hidrólisis del almidón, originando la formación de azúcares solubles.

Respecto a la actuación de las bajas temperaturas en la brotación, el mismo autor dijo que:

- a 2°C la brotación es prácticamente imposible.
- a 4°C se retarda muy considerablemente.
- entre 7°C y 9°C empiezan a notarse esbozos de brotación.
- a 12°C la brotación es incontrolable.
- a 15°C se produce la evolución normal de la yema.

Sigue diciendo Nys (1970) que, una conservación pro-

longada, no debería hacerse por debajo de 4°C ya que a esta temperatura la respiración es mínima y por consiguiente se produce una acumulación de azúcares solubles.

### 1.3.2. Inhibidores químicos

Vistos los problemas que plantea la refrigeración como método para impedir la brotación de las patatas, se pensó en buscar otros medios para conseguirlo y se recurrió al empleo de los inhibidores químicos.

Los productos más importantes que se han utilizado hasta ahora son los siguientes:

- Hidrazida maleica (MH)
- N-fenil carbamato de isopropilo (IPC)
- N-(3-clorofenil) carbamato de isopropilo (CIPC)
- Ester metílico del ácido naftalén-acético (MENA)
- Tetracloro-nitro-benceno (TCNB)
- Alcoholes amílico y nonílico.

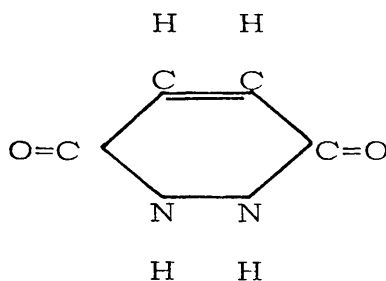
El tratamiento antigerminativo con productos químicos, permite una temperatura de almacenamiento entre 7°C y 9°C con lo cual, los azúcares solubles formados y resultantes de la evolución fisiológica del tubérculo, son consumidos inmediatamente por la respiración que tiene lugar a esta temperatura (Nys 1970).

De todos los inhibidores químicos, la MH, el IPC y el CIPC, han sido los productos que mayor aceptación han tenido a escala comercial. Por esta razón, son los que se

revisarán en los párrafos siguientes.

#### 1.3.2.1. Tratamiento de la planta madre con Hidrazida maleica

La hidrazida maleica (1,2-dihidropiridacina-3-6-diona) denominada comúnmente MH, es un sólido blanco cristalino con un punto de fusión comprendido entre 296° - 298°C y poco soluble en agua (0,4% a 20°C).



Hidrazida maleica (MH)

La MH fué descubierta en 1947 por la Naugatuck Chemical International Company y más tarde, Schoene y Hoffman (1949) comprobaron que tenía efectos inhibidores sobre el crecimiento de las plantas de tomate.

Este compuesto ejerce su acción sobre las células vegetales, inhibiendo la división celular en primer lugar y posteriormente el alargamiento. Su efecto sobre las plantas completas se traduce en una detención de la actividad vegetativa sin llegar a producir la muerte, siempre que la dosis administrada no sea excesiva. Se ab-



sorbe por los órganos en crecimiento y se trasloca con mucha facilidad al resto de la planta análogamente a lo que ocurre con las auxinas sintéticas.

La hidrazida maleica es un producto muy utilizado en Agricultura, tanto como herbicida selectivo como para reducir los fenómenos de brotación durante el período de almacenamiento de bulbos y tubérculos, debiéndose tratar, para este fin, la planta madre cuando esté en un período activo de vegetación, con objeto de que el producto se trasloque hasta el órgano que se desea conservar.

Kennedy y Smith (1951), Highlands y colaboradores (1952) y Franklin y Thompson (1953) encontraron que, en cultivos de patatas, los mejores resultados sobre inhibición de la brotación se obtenían cuando la aplicación se realizaba pulverizando la planta varias semanas antes de la recolección, y Rao y Wittwer (1955) y Sawyer y Dallyn (1958), trabajando con distintas variedades de patatas, concluyeron que el momento óptimo de aplicación del tratamiento era justamente después de la floración.

Timm y colaboradores (1959) comunicaron que cuando pulverizaban plantas de patata a concentraciones de 1.000 - 6.000 p.p.m. de MH y después se almacenaban los tubérculos durante seis meses a temperaturas comprendidas entre 7° y 20°C, se conservaban perfectamente. En cuanto a la producción de tubérculos, no encontraron diferencias entre las plantas tratadas y las testigo.

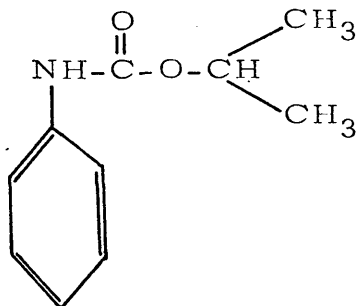
Respecto al fenómeno de brotación interna que se puede observar en los tubérculos almacenados, Ewing y colaboradores (1968) comunicaron que la MH lo reducía considerablemente.

El método de aplicación del producto, recomendado por las casas comerciales, consiste en pulverizar sobre las hojas de las plantas, unas dos semanas después de la floración, una dosis de 2 a 3 kg de materia activa por Hectárea.

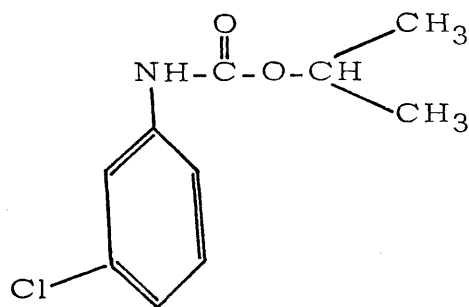
Si el tratamiento se realiza en plena floración, o antes, se producen pérdidas en el rendimiento de tubérculos por mata, y cuando se efectúa después de que las hojas hayan empezado a amarillear, no tiene lugar un control satisfactorio de la brotación por efecto de la escasa absorción y translocación del producto (Naugatuck Chemical International 1961).

#### 1.3.2.2. Tratamiento del tubérculo con IPC - CIPC

Tanto el IPC o Profam (N-fenilcarbamato de isopropilo) como el CIPC o Cloro-Profam (N-(3-clorofenil) carbamato de isopropilo), son dos derivados del ácido carbámico muy empleados como herbicidas selectivos.



IPC



CIPC

Estos dos compuestos son muy insolubles en agua (32 p.p.m. para el IPC y 108 p.p.m. para el CIPC a 20°C) pero son solubles en disolventes orgánicos.

Las propiedades fitotóxicas de este tipo de productos fueron descubiertas en 1945 por Templeman y Sexton (Detroux y Gostinchar 1967) en el crecimiento de plántulas de gramíneas.

El modo de acción de estas sustancias radica principalmente en el bloqueo de la división celular, sin impedir el alargamiento. Una de sus características es que se traslocan con dificultad y producen su efecto localmente en los puntos de absorción. Cuando se emplean como herbicidas selectivos contra gramíneas, la aplicación se efectúa sobre el suelo y, al ser absorbidos por las raíces, ejercen su acción impidiendo el crecimiento de éstas.

Marth y Schultz (1950 y 1952) comunicaron que el CIPC controlaba muy eficazmente la brotación de los

tubérculos de patata almacenados incluso a temperaturas de 20°C.

Desde entonces se extendió el empleo de estos productos para reducir las pérdidas que ocurrían en los tubérculos durante su período de conservación.

El tratamiento debe de ser realizado directamente sobre los tubérculos ya recolectados y no sobre la planta madre, debido a la poca movilidad de estas sustancias.

La aplicación puede ser realizada, bien espolvoreando las patatas antes de ser almacenadas ó efectuando el tratamiento en el mismo lugar de la conservación. En este sentido, Sawyer y Dallyn (1964) y Wilson y Hunter (1965), llegaron a la conclusión de que se podían tratar los tubérculos en el mismo almacén, produciendo corrientes interiores de aire durante un tiempo de 24-48 horas, con objeto de repartir el producto uniformemente entre todos los tubérculos.

Otros métodos de aplicación de estas sustancias, consisten en la utilización de sacos de papel con las paredes internas impregnadas con estos compuestos (Nylund y Ayres 1964), ó bien en la inmersión de los tubérculos en suspensiones acuosas de los mismos, antes de almacenarlos (Hruschka y Heinze 1967).

Es sabido que, como consecuencia de las heridas mecánicas producidas en los tubérculos, se induce, en condiciones normales, una activa proliferación celular para formar el "peridermo de defensa" (wound periderm) que tiene por objeto la protección contra las infecciones

microbianas principalmente. Debido a la acción inhibidora de la división celular que ejercen el IPC y el CIPC, la época más adecuada para efectuar el tratamiento debe retrasarse hasta 4 ó 6 semanas después de efectuada la recolección, porque de otro modo, se impediría la formación del peridermo de defensa y los tubérculos quedarían muy vulnerables a las infecciones (Craft y Audia 1959; Audia y colaboradores 1962; Sawyer 1967).

En cuanto a la brotación interna, cuando estos inhibidores se emplean a bajas concentraciones, se incrementa notablemente la presencia de brotes internos (Hruschka y colaboradores 1965; Hruschka y Heinze 1967; Ewing y colaboradores 1968).

Actualmente se emplean estas sustancias en forma de polvos con una riqueza del 2-4% y a una dosis de 150-300 g por 100 kg de tubérculos, es decir de 5 a 6 g de materia activa por 100 kg.

#### 1.4. UTILIZACION DE LA RADIACION GAMMA EN LA CONSERVACION DE LOS TUBERCULOS DE PATATA

##### 1.4.1. Estudio básico de la radiación gamma

###### 1.4.1.1. Naturaleza

Los rayos gamma, son radiaciones electromagnéticas de la misma naturaleza que la luz y que los rayos X. Están constituidos por fotones, ó cuantos de energía, caracterizados por una longitud de onda comprendida entre  $10^{-10}$  y  $10^{-13}$  m. aproximadamente y una velocidad de propagación del orden de  $3 \times 10^8$  m/s..

La energía correspondiente a cada fotón, depende de su longitud de onda, y aplicando la fórmula de Planck:

$$E = h \cdot \nu$$

en la que:

$h$  = constante de Planck =  $6,6 \times 10^{-34}$  j.s

$\nu$  = frecuencia de vibración  $\frac{c}{\lambda}$

$\lambda$  = longitud de onda

$c$  = velocidad de la luz

se obtiene la energía de la radiación gamma, que está comprendida entre  $10^4$  y  $10^7$  eV, siendo un eV equivalente a  $1,601 \cdot 10^{-19}$  julios.

Los rayos X son de naturaleza análoga a los rayos

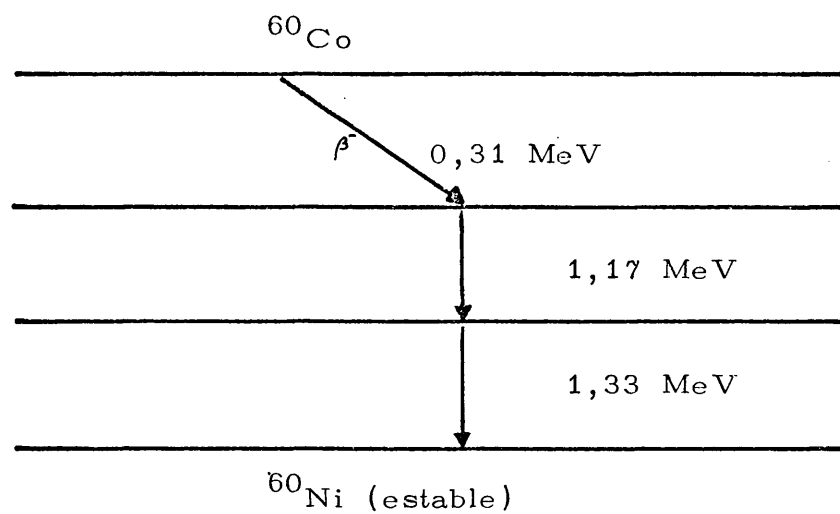


Fig. 9.- Esquema de la desintegración del  $^{60}\text{Co}$ .

gamma, pero abarcan una mayor amplitud en el espectro de sus longitudes de onda (de  $10^{-8}$  a  $10^{-15}$  m).

La diferencia fundamental entre ambos tipos de radiación es la relativa a su origen. En efecto, mientras los rayos X se producen como consecuencia de saltos de electrones en las capas internas de los átomos, los rayos gamma proceden de la desexcitación de los núcleos de átomos radiactivos.

Una característica importante de la radiación gamma, es la de no ser corpuscular ni poseer carga eléctrica, lo cual le confiere la propiedad de ser altamente penetrante, siendo su poder de penetración proporcional a su energía.

Como núclidos típicos productores de rayos gamma se utiliza el  $^{60}\text{Co}$  y el  $^{137}\text{Cs}$ . En el caso del  $^{60}\text{Co}$  (que ha sido el utilizado en nuestras experiencias), el esquema de su desintegración puede verse en la figura (9). Un átomo de  $^{60}\text{Co}$  pierde una partícula  $\beta$  y se transforma en un núclido de  $^{60}\text{Ni}$ , que es también inestable. Este  $^{60}\text{Ni}$  se desexcita parcialmente emitiendo un fotón gamma de 1,17 MeV, alcanzando un estado de semiestabilidad, y tras la emisión de otro fotón gamma de 1,33 MeV, se convierte en  $^{60}\text{Ni}$  estable.

#### 1.4.1.2. Unidades de medida

La radiación, al interaccionar con la materia, cede su energía total o parcialmente, a ésta. Para evaluar la



cantidad absorbida se han definido varias unidades.

Se define la "exposición" o "dosis de irradiación", como la suma de las cargas eléctricas correspondientes a todos los iones de un mismo signo producidos en el aire, por unidad de masa

$$\text{Exposición} = \frac{d Q}{d m}$$

Como la masa, a su vez, es igual al volumen (dv) por la densidad del medio (d), resulta que la exposición en función del volumen es:

$$E = \frac{1}{d} \cdot \frac{d Q}{d v}$$

La unidad de "exposición" ó de "dosis de irradiación" es el roentgen (r), definido oficialmente por el Congreso Radiológico Internacional del año 1937 como "la cantidad de radiación X ó de radiación gamma necesaria para que la suma de las cargas eléctricas de todos los iones producidos, de un mismo signo, por cada cm<sup>3</sup> de aire seco, en condiciones normales de presión y temperatura, atravesado por la radiación, sea de una unidad electrostática de carga". Esta unidad corresponde a una absorción de energía de 86,9 ergios/g de aire.

El roentgen presenta una serie de inconvenientes para su empleo, siendo el principal el de estar solamente definido para la medida de las radiaciones electromagnéticas (rayos X ó gamma). Por otra parte, esta unidad de medida, está referida al aire seco como medio material atravesado, pero no para el medio acuoso de los tejidos biológicos. Por estas razones, se propuso utilizar otro

concepto para medir la radiación y se pensó en la cantidad de energía absorbida por unidad de masa. En este sentido, la Comisión Internacional de Protección contra las Radiaciones, en 1954, definió el rad como la unidad de "dosis absorbida" equivalente a la absorción de 100 ergios de energía radiante por gramo de material irradiado. Esta unidad es pues, independiente de la naturaleza y energía de la radiación y de la naturaleza del medio material.

El rad no se encuentra relacionado directamente con el roentgen, pero es aproximadamente equivalente, ya que la energía absorbida por un gramo de tejido orgánico es alrededor de 93 erg/r.

Recibe el nombre de "flujo" ó intensidad de dosis, la dosis absorbida por unidad de tiempo.

#### 1.4.1.3. Efecto de la radiación sobre el material biológico

Una de las características más importantes de las radiaciones es su poder para producir alteraciones considerables en el crecimiento y desarrollo celular. Estas alteraciones se traducen normalmente en la muerte de la célula, o en la pérdida de su poder de división, así como en mutaciones génicas, cromosómicas etc... Todos estos cambios celulares sobrevienen porque las radiaciones ionizantes, al atravesar el material biológico, ceden su energía a alguna de las moléculas del material irradiado, las cuales se activan y pueden entrar en reacción.

En algunos casos, ésta cesión de energía por parte de las radiaciones se traduce en calor, con lo que se eleva un poco la temperatura del material que se irradia. La importancia de los cambios ocurridos en las células, así como la proporción de las que quedan afectadas, es tanto mayor cuanto más grande haya sido la exposición a la radiación.

El lugar de la célula en el que se produce la lesión inducida por la radiación, es uno de los factores que más influyen en las alteraciones posteriores. Existen ciertas estructuras críticas, cuya integridad es esencial para la vida de la célula, y cualquier daño inferido en dichas estructuras puede llegar a ocasionar la muerte celular. La localización de todos estos "sitios críticos" ó "targets" (como normalmente se les suele llamar), no se sabe con certeza; ahora bien, se supone que las moléculas de los ácidos nucleicos deben de ser posiblemente los "targets" más importantes. En estos ácidos, se producen muy rápidamente una serie de cambios químicos después de una absorción de energía, cambios que no se manifiestan inmediatamente, pero que ocasionan grandes anomalías metabólicas que se ponen de relieve más tarde y se amplifican con el paso del tiempo.

En la exposición de las células a la radiación, se suceden rápida y continuadamente un conjunto de alteraciones que se podrían agrupar en diferentes niveles (figura 10).

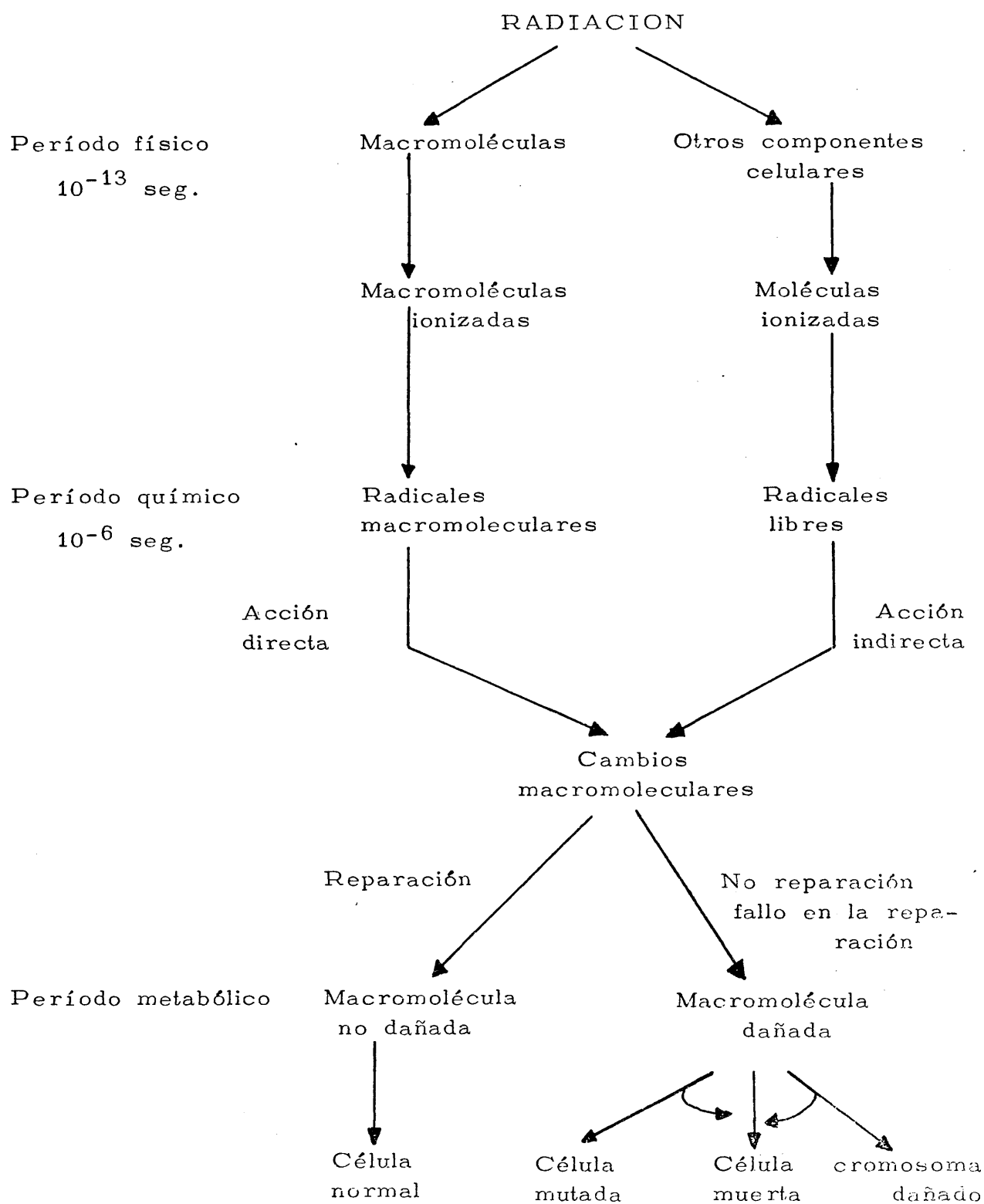


Fig. 10.- Esquema general de la evolución del daño producido por la radiación en las células.

#### 1.4.1.3.1. Nivel físico

Comprende los procesos de absorción de la energía radiante, por el átomo.

Aún cuando en las interacciones entre los fotones y los átomos, el resultado final es la producción de ionización, las radiaciones electromagnéticas no son radiaciones directamente ionizantes.

Los principales efectos que los rayos gamma pueden producir al incidir sobre el material biológico, a nivel físico son: Efecto fotoeléctrico, Efecto Compton, Producción de pares y Excitación. A continuación vamos a exponer cada uno de ellos.

Efecto fotoeléctrico .- Es un proceso de absorción completa de los fotones en el campo electromagnético de los electrones y ocurre este fenómeno al interaccionar los fotones con los electrones internos de los átomos del medio en que penetran. El efecto fotoeléctrico consiste, por tanto, en que el fotón incidente es absorbido totalmente y transmite toda su energía a un electrón. Si la energía del fotón incidente ( $h\nu$ ) es mayor que la energía de enlace del electrón ( $E_e$ ), éste saldrá despedido del átomo, que quedará ionizado. Este proceso recibe el nombre de efecto fotoeléctrico y el electrón expulsado se denomina "fotoelectrón". La energía cinética de este electrón ( $E_c$ ), es igual a la energía de la radiación ( $h\nu$ ), menos la energía ( $W$ ) necesaria para separar el electrón del

átomo o energía de enlace del electrón.

$$E_c = h\nu - W$$

Por tanto, todos los fotoelectrones que se forman mediante la interacción de un rayo gamma de determinada energía con los electrones de un nivel determinado, serán expulsados con la misma energía. En la figura 11 se muestra un esquema del proceso.

En el átomo queda un hueco en la capa del electrón expulsado, hueco que será ocupado por otro electrón de la capa superior. En esta caída del electrón, se produce una pérdida de energía, la cual es emitida en forma de radiación X.

Si el electrón que ha ocupado el hueco del fotoelectrón no procediese de la capa externa, se producirá otro hueco en su capa y se repetiría el proceso hasta que el átomo quedara en forma de ión, emitiéndose tantos rayos X como saltos electrónicos.

Efecto Compton.- Se produce cuando los rayos gamma interaccionan con un electrón que está retenido con muy poca fuerza por el núcleo, tal como ocurre con los electrones de la capa externa (fig. 12). La energía de fotón incidente se distribuye entre el electrón arrancado y un nuevo fotón que disipa la energía restante. La energía con que sale expulsado el electrón será:

$$E_c = h\nu - h\nu' = \Delta h\nu$$

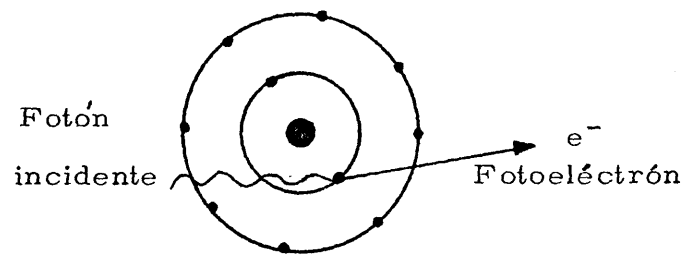


Fig. 11.- Esquema del efecto fotoeléctrico

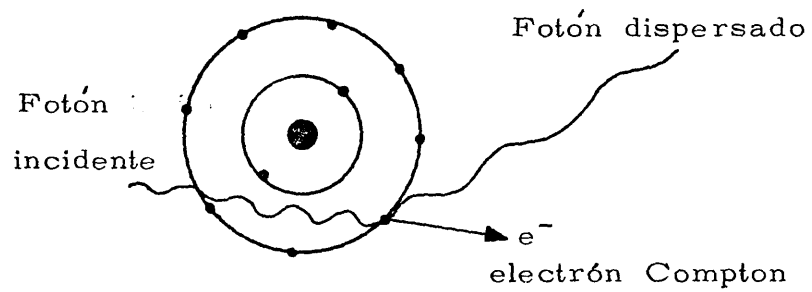


Fig. 12.- Esquema del efecto Compton

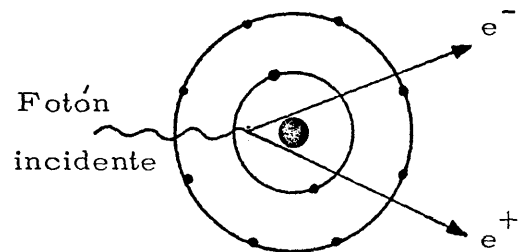


Fig. 13.- Esquema de la producción de un par.

Siendo  $h\nu$  la energía del fotón incidente y  $h\nu'$  la del fotón dispersado.

Producción de pares.- Tiene lugar cuando la energía de la radiación gamma incidente es superior a 1,02 MeV. En este caso, el rayo gamma de alta energía, que pasa a través del campo del núcleo, puede transformarse espontáneamente en un electrón negativo y un electrón positivo. Este proceso se denomina "producción de un par", y es un ejemplo de la transformación de la energía en materia, de acuerdo con la relación de equivalencia de Einstein. La masa en reposo de cada electrón equivale aproximadamente a 0,51 MeV, de modo que la energía inicial de los rayos gamma debe de ser por lo menos del doble de este valor para que puedan formarse dos electrones. ( $2 \times 0,511 \text{ MeV} = 1,022 \text{ MeV}$ ). El exceso de energía del fotón gamma incidente, es transformado en energía cinética de los nuevos electrones formados (figura 13).

$$E_c + E_{c'} = h\nu - 2 m_0 c^2$$

siendo  $E_c$  y  $E_{c'}$  las energías cinéticas de ambas partículas y  $m_0$  la masa del electrón en reposo.

Efecto de Excitación.- Se produce cuando un rayo gamma de baja energía, interacciona con un electrón interno retenido fuertemente por el núcleo. La energía absorbida por el electrón lo desplaza hasta niveles energéticos más elevados, pero resulta insufi-



ciente para expulsarlo del átomo. Así, este átomo queda excitado y la desexcitación se produce mediante la emisión de rayos X, característicos de las diferencias de energía que existen entre los niveles energéticos que intervienen. En este caso, la energía total de los rayos X emitidos es igual a la energía total de la radiación gamma incidente.

En todos estos efectos (excepto en el último), los electrones negativos que se han puesto en movimiento, van perdiendo su energía al ir produciendo ionizaciones en su paso a través de la materia. Por esto, la energía de la radiación gamma aparece esencialmente como energía productora de ionización.

Por otra parte, los fotones Compton producidos, verifican otros nuevos choques Compton o colisiones fotoeléctricas, y como resultado de todo ello, su energía produce finalmente efectos de ionización o de excitación.

Los electrones positivos  $e^+$  o positrones aparecidos durante la producción de pares, mientras posean energía cinética, la irán perdiendo al producir sucesivas ionizaciones, de la misma manera que si se tratase de electrones negativos excepto en lo que se refiere a la diferencia de carga. No obstante, cuando queda en reposo al final de su recorrido, el positrón acaba sufriendo una interacción final con un electrón negativo. Después de combinarse durante un instante, el par de electrones se aniquila mutuamente con producción de radiación gamma. En la mayoría de los

casos, esta radiación gamma está formada por dos fotones, cada uno de 0,51 MeV de energía, que son emitidos formando un ángulo de  $180^\circ$  entre sí. Se denominan "fotones de aniquilamiento".

#### 1.4.1.3.2. Nivel químico

Como consecuencia de los efectos producidos por las radiaciones a nivel físico en la materia, tienen lugar una serie de reacciones químicas entre las moléculas activadas. Estas reacciones ocurren en un tiempo de aproximadamente una millonésima de segundo y afectan a un entorno del orden de un nanómetro o menos de radio.

La radiación suministra una determinada "energía de activación" solamente a unas cuantas moléculas, que son las que luego entrarán en reacción. La mayoría de estas reacciones químicas necesitan una energía de activación del orden de 1 a 10 eV, que es fácilmente suministrada por una ionización ya que ésta viene a ser equivalente a unos 30-35 eV. El número de reacciones por unidad de volumen, es proporcional a la dosis recibida, aunque sólo es absorbida y aprovechada en forma de cambio químico aproximadamente una cuarta parte de la energía cedida, siendo el resto disipado en forma de calor. El efecto de calentamiento, por parte de las radiaciones es, no obstante, muy pequeño (de alrededor de dos milésimas de grado cen-

tígrado por cada 1.000 rads).

En este período químico, tiene lugar una secuencia de sucesos que comprende, primeramente, las reacciones habidas entre las moléculas ionizadas, bien porque entren en colisión espontáneamente entre ellas, o porque lo hagan con otras moléculas circundantes, resultando de todo ello la formación de entidades denominadas "radicales libres".

Posteriormente, estos radicales libres, que son muy reactivos por tener la última capa no saturada de electrones, entran en seguida en reacción, entre ellos o con otras moléculas normales. Esto último depende del grado de movilidad que tengan estos radicales, siendo tanto más rápida su difusión cuanto más acuoso sea el medio en que se encuentren. Por ejemplo, en células de esporas o de semillas, de bajo contenido acuoso, estos radicales libres pueden permanecer inmóviles durante meses, pero entran en reacción y desaparecen rápidamente en cuanto que estas células absorben agua.

Durante este período o nivel químico, es cuando fundamentalmente se originan las distintas lesiones en los "targets". Parece prácticamente indudable que los "targets" más importantes están localizados dentro del núcleo celular y más concretamente en los ácidos nucleicos.

Cuando se irradia el DNA, se pueden detectar alteraciones químicas en todas las partes de la molé-

cula. Estas alteraciones pueden ir desde desaminación, deshidroxilación o pérdida de bases, hasta oxidaciones del azúcar o pérdida de fosfato inorgánico. Por ejemplo, al irradiar bases pirimidínicas, suele haber hidroxilaciones; la estructura isomérica cambia al hidratar la molécula y así los puentes de hidrógeno que unen las bases, se alteran y la estructura varía. Irradiando citosina, existe la posibilidad de que el carbono que tiene el grupo  $\text{NH}_2$ , sufra una desaminación oxidativa, de tal manera, que pasa a CO y por tanto se convierte en uracilo; esto implica, claro está, un cambio en la secuencia de bases, que puede acarrear posteriormente una serie de anomalías celulares.

Drásil y Rýznar (1968) al irradiar timina con rayos gamma (y alfa) en presencia de oxígeno, obtuvieron como principales productos de la radiolisis, el hidroperóxido de timina y la timina glicol; en ausencia de oxígeno, se formaron timina glicol, dihidro-timina y sus monohidroxiderivados y el 5-hidroximetil-uracilo. Estos resultados demostraron que el radical OH es el principal producto que toma parte en la radiolisis de la timina. Por otro lado, al irradiar las bases púricas se rompe con cierta frecuencia su anillo pentagonal, pasando a pirimidinas, con restos más ó menos grandes que entorpecen y sobre todo, modifican la estructura del ácido nucleico.

Estas alteraciones químicas pueden inducir, y de hecho inducen, cambios en la estructura física del

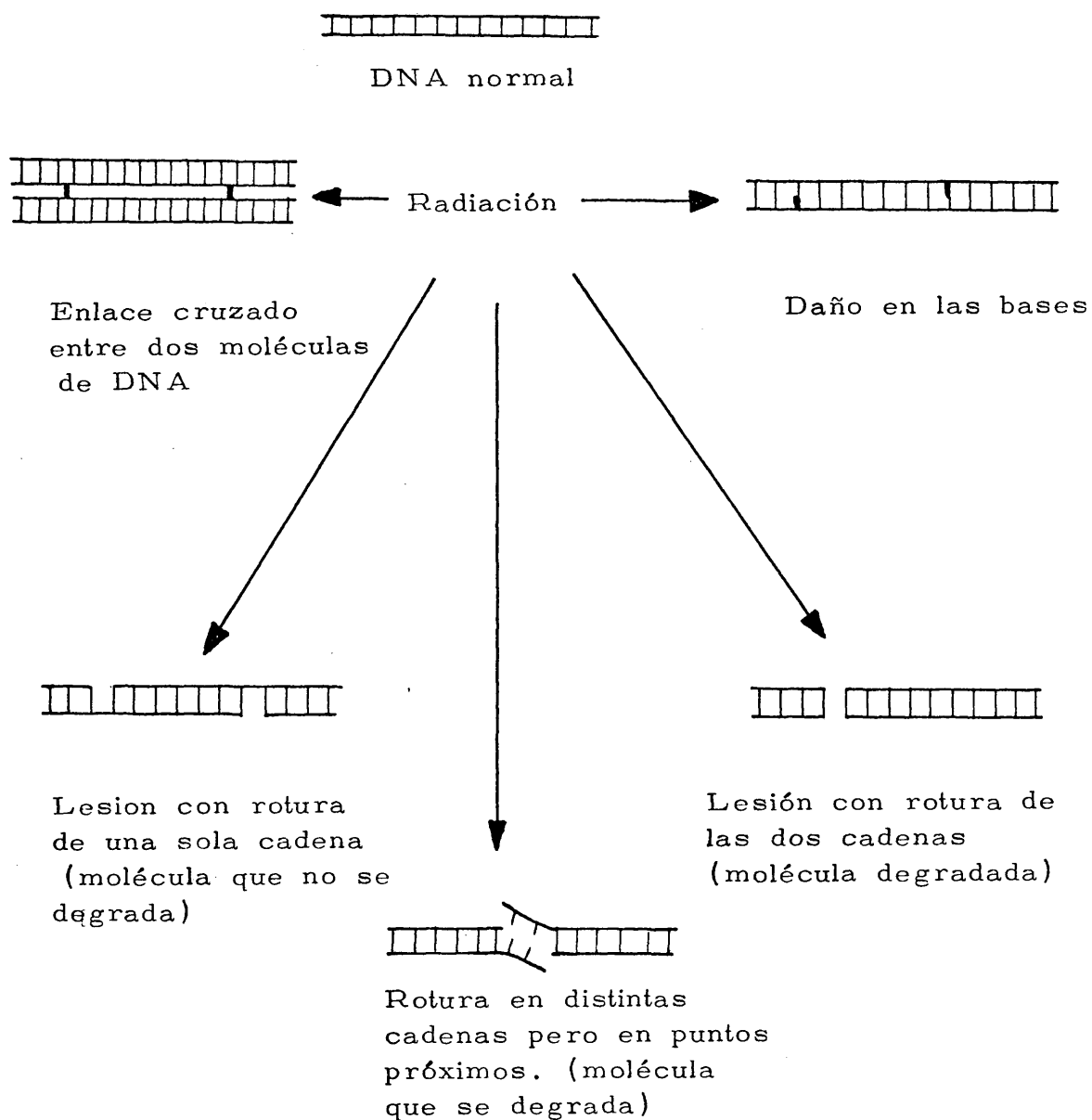


Fig. 14.- Esquema de los principales tipos de lesiones que pueden sufrir las moléculas de DNA bajo la acción de las radiaciones ionizantes.

DNA, siendo el origen de enlaces cruzados dentro de la molécula de DNA o entre moléculas adyacentes y de rotura de las cadenas de azúcar-fosfato.

Cuando el DNA reacciona con los radicales libres producidos como resultado del efecto de bajas dosis de radiación sobre el medio circundante, es probable que se rompa una sola cadena de las dos que componen la molécula de DNA, con lo que ésta no se degradaría. Por el contrario, la acción de las radiaciones ionizantes en dosis agudas, pueden romper ambas cadenas en el mismo punto ó en lugares muy próximos. En este caso es cuando efectivamente el DNA se degrada. Este último tipo de lesión es el que quizás cause posteriormente más daño a la célula, ya que implica una alteración de la información del material genético.

La figura 14 muestra en esquema los principales tipos de lesiones que pueden sufrir las moléculas de DNA bajo la acción de las radiaciones ionizantes.

En las últimas consideraciones se ha supuesto que las moléculas de DNA eran rotas por efecto de las reacciones con radicales libres producidos en el medio, por efecto de las radiaciones. Esto es un ejemplo típico del "efecto indirecto".

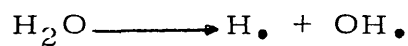
En ocasiones, las radiaciones pueden incidir directamente sobre los átomos que componen la molécula de DNA y producir también, como consecuencia, alteraciones en ésta. A este tipo de interacción

se le denomina "efecto directo".

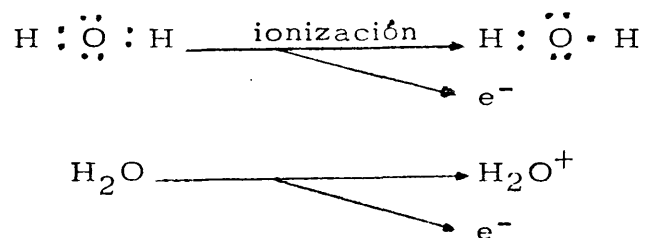
En la práctica es muy difícil descubrir las proporciones relativas producidas por uno u otro tipo de efecto.

Puesto que el contenido acuoso de las células supone un 75% ó más de su peso, aproximadamente las tres cuartas partes de las ionizaciones producidas en ellas, ocurrirán en las moléculas de agua, causando una serie de radicales libres de una gran movilidad, que son los que principalmente interaccionarán con las macromoléculas vitales.

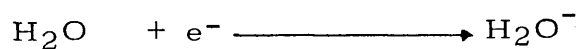
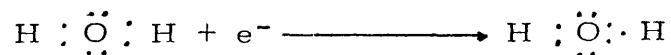
Los principales productos de la radiolisis del agua son los radicales libres  $H\cdot$  y  $OH\cdot$ .



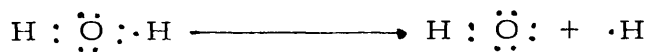
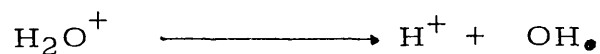
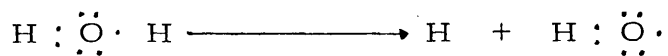
Su mecanismo principal de formación es mediante la ionización del agua.



Este electrón arrojado, puede ser capturado por otra molécula de agua y formar así un ión cargado negativamente.

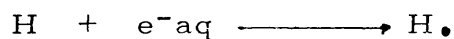


Estos radicales libres iónicos positivos ó negativos son muy inestables y se disocianen seguida dando como resultado un ión estable y un radical libre.



De aquí, el hidrogenión estable ( $\text{H}^+$ ) y los iones hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ) se combinan y forman agua, quedando los radicales libres  $\text{H} \cdot$  y  $\text{OH} \cdot$ .

El electrón capturado por las moléculas de agua neutras (electrón solvatado ó agua electronizada ( $e^-_{\text{aq}}$ )), reacciona en seguida con los iones de hidrógeno para dar radicales libres de hidrógeno (hidrógeno atómico).

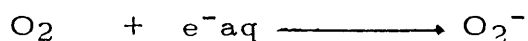
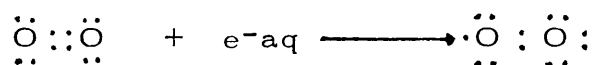
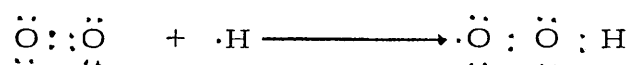


Tanto los  $\text{H} \cdot$  como los  $e^-_{\text{aq}}$  tienen un gran poder reductor y originan unas reacciones muy similares.

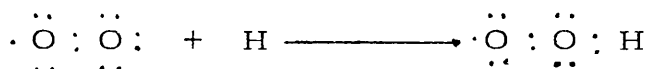
Los radicales libres de  $\text{H} \cdot$  y  $\text{OH} \cdot$  así como los



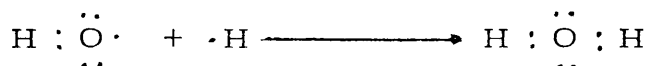
$e^-_{aq}$ , son todos muy reactivos y a lo largo de su difusión distribuyen la energía absorbida a las moléculas solutas, tanto orgánicas como inorgánicas. Durante este proceso, los radicales libres primarios pueden dar origen a los secundarios, que pueden a su vez dañar a las macromoléculas. Por ejemplo el H. y el  $e^-_{aq}$  pueden reaccionar con el oxígeno formándose el radical hidroperoxilo  $HO_2$ .

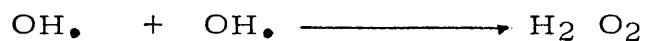
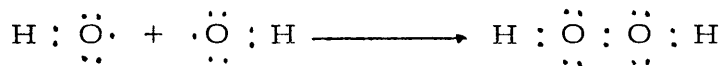
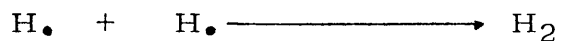


y éste a su vez, al reaccionar con el hidrogenión  $H^+$ , también podrá originar el radical hidroperoxilo.

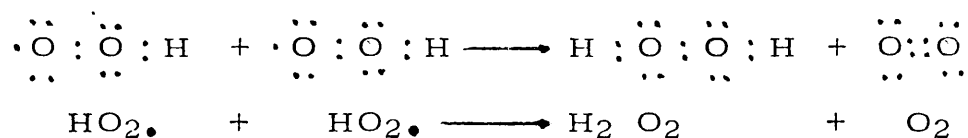


Por otra parte, los radicales libres primarios pueden reaccionar entre ellos

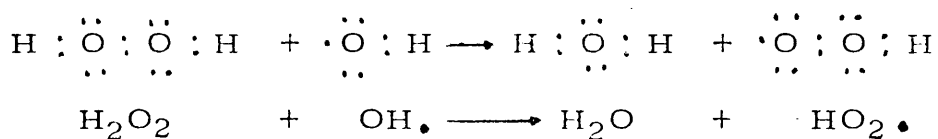
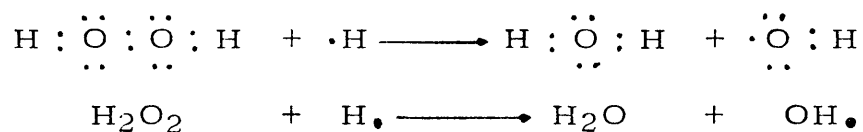




Este peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) también puede formarse por la combinación de dos radicales hidroperoxilo.



Y puede a su vez reaccionar con otros radicales libres



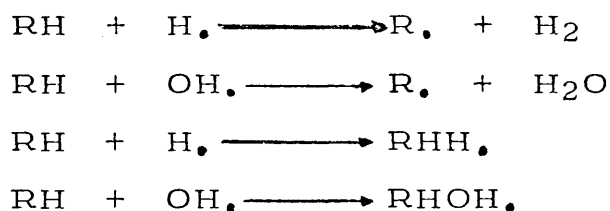
El agua oxigenada, debido a su carácter oxidante, puede dañar fácilmente a las sustancias orgánicas.

La probabilidad de que los radicales libres reaccionen entre ellos así como con otras moléculas, de-

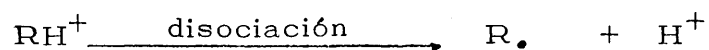
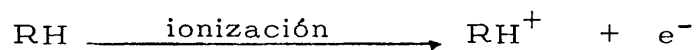
pende de la localización espacial de las ionizaciones. Si las radiaciones ionizantes tienen una baja ionización específica, los radicales libres se forman tan lejos unos de otros, que tienen poca posibilidad de chocar entre ellos antes de encontrarse con otras moléculas. Por el contrario, con radiaciones ionizantes de alta ionización específica (por ejemplo partículas  $\alpha$ ), la concentración local de radicales es elevada y como consecuencia, la posibilidad de choque entre los radicales libres es alta, formándose grandes cantidades de peróxido de hidrógeno alrededor del camino de las partículas  $\alpha$ , contribuyendo al daño que causa esta radiación.

La reacción de las proteínas, ácidos nucleicos etc... con los radicales libres, consiste en principio en la sustracción o adición de hidrógeno a estas moléculas, con la consiguiente formación de radicales macromoleculares.

Si por ejemplo, representamos por RH a una proteína o ácido nucleico, las reacciones son:



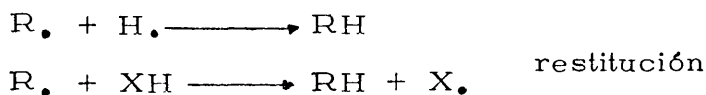
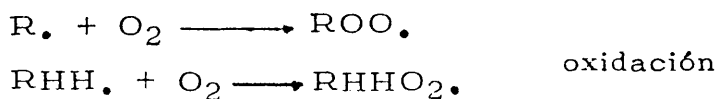
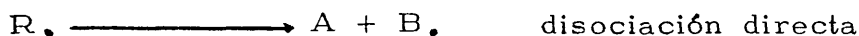
Estos radicales secundarios ( $\text{R}_\bullet$  etc...) son seguramente muy parecidos a los formados por la ionización directa de la macromolécula.



Dentro de la molécula, el punto en el que tiene lugar la formación del radical, no tiene que ser necesariamente el lugar en el que se haya perdido el electrón, ya que inmediatamente después de la ionización, hay una rapidísima redistribución de los electrones dentro de la macromolécula, localizándose posteriormente la deficiencia del electrón en el sitio más idóneo para soportarla.

Por último, los radicales macromoleculares resultantes de la acción directa o indirecta de la radiación, reaccionan con otras moléculas o entre sí, de tal manera que se destruye a menudo su función biológica.

Los tipos de reacciones que se pueden dar son entre otros:



En estas reacciones, la molécula activa se representa por RH. En los casos de disociación, oxidación y enlace entre radicales, se suele perder o dañar la función biológica de la molécula. Las dos últimas reacciones conducen a la restitución de la molécula original que queda por tanto "reparada". XH en la última reacción puede representar una variedad de sustancias, de las cuales las mejor conocidas son aquellas que contienen el grupo sulfhidrilo. (Lawrence 1971).

#### 1.4.1.3.3. Nivel fisiológico

Comprende el conjunto de alteraciones metabólicas inducidas por las lesiones bioquímicas habidas, y los mecanismos de reparación de las mismas.

La trascendencia fisiológica que puede tener una lesión en el DNA, es enorme e indiscutible, ya que el DNA es el material genético que cumple la misión de almacenar, replicar y transmitir la información, dando las instrucciones necesarias para la síntesis de las proteínas celulares.

Las lesiones en determinados sitios del DNA, pueden inducir mutaciones génicas que traerán como consecuencia efectos más o menos graves sobre algunos aspectos del metabolismo, estructura y desarrollo.

Aunque las macromoléculas se dañan muy rápidamente después de la absorción de la energía, la

mayoría de las células, en cambio, aparecen completamente normales durante un período de tiempo relativamente largo después de la irradiación. Las consecuencias del daño bioquímico inferido, no se ponen de manifiesto hasta transcurridas una serie de horas, días o incluso semanas, ya que es necesario que se lleve a cabo un período activo de metabolismo para que se pueda observar un efecto visible. Es más, en las células con poco contenido acuoso (esporas, semillas, etc...), como los radicales libres pueden persistir inalterados durante largo tiempo, no se podrá cuantificar el daño producido por la radiación hasta el momento en que al absorber agua, reanuden su actividad metabólica.

Las alteraciones en las moléculas de DNA ó en otras estructuras, pueden afectar a determinados aspectos del metabolismo celular, revelándose éstas lesiones cuando la célula vaya a realizar la función perjudicada; si el metabolismo se suprime temporalmente, por deshidratación o enfriamiento de la célula por ejemplo, la manifestación de la lesión se retrasa lógicamente. El "daño molecular" sufre una amplificación biológica durante el curso del metabolismo. Sin embargo, las células poseen una capacidad para "reparar", en parte, los daños bioquímicos ocasionados, estando influenciada esta reparación posiblemente por las circunstancias ambientales celulares durante el período de la post-irradiación.

Hasta ahora las hipótesis que se han dado, tratan de explicar cómo pueden repararse los defectos producidos en el DNA ya que se supone que sus macromoléculas son la sede de importantes "targets".

La reparación del daño de DNA, requiere la presencia de una serie de enzimas denominados "reparasas", que parecen moverse a lo largo de las moléculas de DNA afectadas por las alteraciones químicas. Estas alteraciones son precisamente las que perturban localmente la forma de la macromolécula, siendo detectadas y reparadas por las enzimas.

Cuando la lesión es pequeña, puede corregirse directamente "in situ", pero, si el daño es importante, estas enzimas destruyen la porción afectada y posteriormente la resintetizan a base de nuevos nucleótidos que van a ocupar sus sitios correspondientes en el hueco anterior. Durante esta resíntesis, es esencial que se restaure en la cadena de DNA la secuencia original de las bases, puesto que esta secuencia específica es el origen de las instrucciones particulares y de la información que contiene el DNA. Esto es una tarea fácilmente realizable por las reparasas, ya que la secuencia de bases de la cadena no dañada, va determinando las bases que han de ser insertadas y el orden en que han de colocarse.

Por consiguiente, el que las moléculas de DNA posean dos copias complementarias de su información genética, supone, además de una ayuda para verificar su re-

paración, un importante factor de seguridad.

Sin embargo, puede ocurrir que en la nueva cadena se inserte una base incorrecta, lo cual daría origen a una mutación, y es posible que muchas de las mutaciones inducidas por la radiación, procedan no ya del daño primitivo, sino de tales errores de reparación.

Hasta ahora, los modelos descritos de cómo se produce la reparación, son en principio correctos, aunque no se conocen en detalle, y sobre todo, necesitan más comprobación experimental.

#### 1.4.1.3.4. Nivel celular

Como consecuencia de todos los daños bioquímicos ocasionados por la radiación, se origina en las células una infinidad de cambios que pueden ser temporales ó permanentes.

Una de las alteraciones citológicas observadas desde los primeros tiempos de los estudios radiobiológicos, fueron las aberraciones cromosómicas que ocurren espontáneamente en todos los seres vivos y son incrementadas enormemente por las radiaciones.

Se han encontrado muchos tipos de aberraciones cromosómicas, aunque se podrían resumir en dos fundamentales: unas, que afectan a los dos cromatidios hermanos del cromosoma, llamándose entonces "aberraciones cromosómicas" propiamente dichas, y otro segundo



tipo en el que sólo queda afectado un sólo cromatidio hermano, llamándose entonces "aberración cromatídica".

Las aberraciones cromosómicas se encuentran en las células que fueron irradiadas antes de que los cromosomas se hubieran duplicado, lo cual tiene lugar en la mitad de la interfase entre dos divisiones celulares consecutivas, mientras que las aberraciones cromatídicas, se encuentran en las células irradiadas después de su duplicación.

También puede ocurrir que las células irradiadas después de su duplicación, contengan determinados tipos de aberraciones cromosómicas, pero éstas son debidas a que se produjeron lesiones simultáneas en ambos cromatidios hermanos, llamándose este último tipo, "aberraciones isocromatídicas".

La mayoría de las aberraciones tanto cromosómicas como cromatídicas, interfieren con la exacta y ordenada transmisión del material genético a los núcleos hijos, y pueden representar, al menos, una de las causas de la pérdida de la capacidad proliferativa.

Muchas aberraciones consisten en pérdidas de material genético durante la división e incluyen la formación de fragmentos acéntricos y dicéntricos, los cuales, en la anafase, no pueden moverse normalmente y en general, parte del material genético queda excluido de alguno de los núcleos hijos. Estas pérdidas o delecciones pueden llegar a ser letales para la célula.

Sparrow y colaboradores (1963a) mantienen la hipótesis de que la variación en radiosensibilidad en las distintas células, está relacionada con el volumen nuclear (NV), siendo las más radiosensitivas las que tienen un núcleo mayor.

Estos autores observaron claramente una correlación inversa entre la radiorresistencia que ofrecían las células y el volumen medio unitario de sus cromosomas en la interfase (ICV), siendo este volumen el resultado de dividir el volumen nuclear entre el número de cromosomas.

Gómez-Campo y Delgado (1964) en un trabajo realizado irradiando semillas de 47 especies de Crucíferas, encontraron que existía una relación entre el volumen nuclear y tamaño de los cromosomas con la radiosensibilidad de las distintas especies, siendo las más radiorresistentes aquellas que presentaban un menor volumen nuclear.

En trabajos posteriores se ha venido confirmando esta hipótesis encontrándose que en plantas superiores existe una correlación directa entre el ICV y NV con la radiosensibilidad (Sparrow y colaboradores 1965; Yamakawa y Sparrow 1965 y 1966; Sparrow y colaboradores 1967; Ichikawa y Sparrow 1967; Donini 1967; Iqbal 1970). Esta correlación es más alta cuando se basa sobre el ICV que cuando se basa en el NV, excepto en aquellos casos en que es pequeña la variación en el número de cromosomas (Underbrink y cola-

boradores 1973).

Ultimamente, Sparrow y colaboradores (1968) y Underbrink y colaboradores (1973) siguen manteniendo esta idea de la mayor radiosensibilidad en relación directa con el ICV, de tal forma que incluso sugieren que el producto del ICV por la dosis letal del 50% ( $DL_{50}$ ) se aproxima a una cantidad constante.

La explicación en que Sparrow basa su hipótesis es en que un mayor volumen nuclear ofrece una mayor probabilidad de impacto.

Langenauer y colaboradores (1973) trabajando con yemas de parra virgen, no encontraron relación entre el NV y el ICV con el tanto por ciento de supervivencia, lo cual viene a quitar generalidad a la teoría de Sparrow y otros autores sobre la influencia del NV en la radiosensibilidad.

Además de las lesiones en los ácidos nucleicos, las radiaciones pueden producir la rotura de membranas internas celulares que liberarían al citoplasma un conjunto de enzimas líticos que podrían llegar a ocasionar la lisis celular.

En las células meristemáticas de los vegetales, uno de los efectos que se observan como consecuencia de las radiaciones, es la pérdida del poder de división, y si la dosis absorbida no ha sido muy alta, las células pueden seguir aumentando de tamaño hasta un determinado nivel dando como consecuencia células gigantes o hipertrofiadas.

#### 1.4.1.3.5. Nivel organismo

En un organismo completo son múltiples los efectos que pueden ocasionar las radiaciones, como consecuencia de las alteraciones que se originan en cada una de sus células componentes.

Dentro del mundo biológico, hay una enorme variación en la radiosensibilidad de las especies que lo componen, pero en general, se puede observar que las especies de mayor complejidad son las más sensibles mientras que las de estructura más sencilla presentan una mayor resistencia (fig. 15).

Esta diferente radiosensibilidad pudiera estar relacionada con el ICV de cada especie.

Sparrow y colaboradores (1968) en un intenso estudio sobre gran cantidad de plantas leñosas, observaron claramente que en las Angiospermas tienen una preponderancia los ICV pequeños mientras que en las Gimnospermas los ICV son mayores, resultando que estas últimas son bastante más radiosensibles que las Angiospermas.

Es interesante resaltar el hecho de que las radiaciones influyen notablemente en el crecimiento y desarrollo de los órganos. Concretamente, por ser la capacidad de división celular una de las más afectadas por la radiación (incluso a dosis medias), se comprende que uno de los muchos efectos de éstas sobre las plantas u organismos vegetales, sea la interacción con los meristemas y

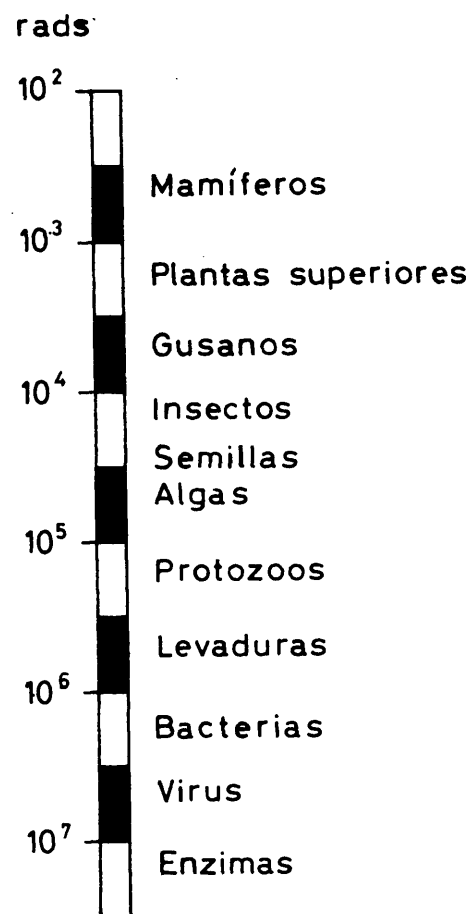


Fig. 15 .- Escala de radiosensibilidad biológica.

como consecuencia la inhibición de la brotación y la detención del crecimiento.

En los tubérculos de patata (objeto de la presente tesis), que contienen yemas destinadas a producir una nueva planta, las radiaciones ionizantes actúan inhibiendo el desarrollo de los meristemos localizados en las citadas yemas, aparte de producir otras muchas alteraciones metabólicas en la totalidad del tubérculo, como se verá en el capítulo siguiente.

#### 1.4.2. Estudio de la interacción de las radiaciones con los tubérculos de patata

##### 1.4.2.1. Generalidades e Historia

Desde de Sparrow y Christensen (1950 y 1954) demostraron que sometiendo los tubérculos de la patata a la acción de diversos tipos de radiaciones ionizantes (rayos X, rayos gamma y neutrones) se inhibía de manera definitiva su brotación, se centró la preocupación de muchos investigadores en ver las posibilidades de utilización práctica de esta técnica para la conservación de las patatas.

Un grupo de investigación del Departamento de Sanidad de Paris (DSP y la Sociedad Conservatome de Lyon (1958)), hizo un estudio en el que expusieron tubérculos de patata a dosis que oscilaban entre 100 y 50.000 rads. El

efecto de la irradiación se estudió sobre tubérculos almacenados a diferentes temperaturas y sobre tubérculos plantados. Parece ser que dosis de irradiación inferiores a 1.000 rads no ejercieron un efecto inhibitorio sobre la brotación, ni tampoco afectaron al desarrollo posterior de la planta, sino que estas dosis inferiores, produjeron un efecto beneficioso ya que originaron un mejor desarrollo vegetativo y un incremento en la cosecha de tubérculos. Por encima de 1.000 rads y hasta 5.000 rads, los tubérculos irradiados, pudieron germinar, pero el desarrollo posterior de la planta se vió muy disminuído, y la cantidad de nuevos tubérculos decreció según la dosis aplicada al tubérculo-madre.

Por encima de 5.000 rads, los tubérculos brotaron anormalmente; las yemas que aparecieron fueron pequeñas, atrofiadas o mal desarrolladas.

Según estas observaciones, la dosis óptima para ser aplicada a los tubérculos, con vista a un subsiguiente almacenamiento, estaría comprendida entre los 7,5 y 8 Krad ya que en las dosis superiores a 6 Krads no se observó ningún desarrollo visible de las yemas. Aunque algunos autores recomendaban dosis de 10 Krad, este grupo de investigadores optó por irradiar a una dosis inferior a 10 Krad, ya que con dosis elevadas se producían más deterioros en los tubérculos almacenados.

Sawyer y Dallyn (1961) también comunicaron que para obtener un buen control comercial de la brotación, se podían irradiar las patatas a dosis comprendidas entre 5 y 10 Krad, procurando utilizar las dosis mínimas necesarias, con idea

de evitar otros efectos perjudiciales tales como la podredumbre de los tubérculos.

Mathur (1963) obtuvo un considerable control de la brotación de tubérculos con dosis de 10 Krad, dependiendo este control no sólo de la variedad de patata, sino también del flujo de irradiación; cuanto más elevado fuera el flujo, menor tendría que ser la dosis necesaria para inhibir el crecimiento. También encontró que cuanto más cerca estaban las patatas de su estado de finalización del reposo, mayor tendría que ser la dosis necesaria para impedir la germinación.

Dharkar (1966) y Dharkar y Sreenivasan (1966) también comprobaron que para inhibir la brotación de las patatas, cada variedad exigía una dosis diferente, y a medida de que el tubérculo se aproximaba al final de su reposo, la dosis necesaria tenía que ser más elevada. Concretamente, la variedad "Phulwa", después de haber recibido una dosis de 6 Krad, pudo conservarse bien en el almacén a temperatura ambiente (21-35°C) durante un mes y medio, y a temperatura de 10-12°C, su conservación pudo prolongarse hasta 6 meses y medio; en cambio la variedad "Up-to-date" requirió dosis de 9 Krad para inhibir su germinación. En general obtuvieron que, cualquier variedad de patatas cuando se irradia al final de su período de reposo, exige dosis del orden de 12 Krad para impedir su brotación.

Matsuyama (1966) en una revisión hecha sobre los avances en la investigación japonesa sobre alimentos irradiados, dijo, con respecto a las patatas, que la acción de



inhibir la brotación de los tubérculos por medio de la radiación era más efectiva durante el período de reposo, poco después de la recolección, que al principio del período de la brotación, y que en ese primer período, la dosis de 7 Krad es suficiente para inhibir por completo la elongación de los brotes.

Sanín-Sáder (1966) también confirmó que las investigaciones sobre la irradiación como método para inhibir la brotación de las patatas, indican que bastan 8 ó 10 Krad para retrasar ó impedir la brotación durante 7 u 8 meses, en diferentes variedades de patata y bajo distintas condiciones de almacenamiento.

Michiels en su tesis doctoral (1967) aseguró la irreversibilidad de la inhibición del crecimiento, obtenido por la irradiación directa de las yemas, y que la aplicación de tratamientos conocidos para activar el crecimiento de las yemas de patata, tales como el AG, etilen-clorhidrin, o incluso el quitar el peridermo de alrededor de las yemas, no quita la inhibición producida por irradiación de los tubérculos a dosis de 12 Krad con un flujo de dosis elevado (1.000 a 2.000 rads/minuto). La misma irreversibilidad de la inhibición obtuvo cuando irradió directamente las yemas, separadas del tubérculo, sin ninguna protección en los meristemas. La inmersión a posteriori en soluciones concentradas de ácido giberélico puro (500 ppm) o la aplicación de gotas de estas soluciones sobre el ápice, no regeneraron las facultades de crecimiento de estas yemas.

Sandret y Michiels (1966) dijeron que, si la dosis de irra-

diación era suficiente, es decir, si considerando la variedad de la patata y la época del tratamiento la dosis se situaba entre 8 y 12 Krad, la inhibición de la germinación era total e irreversible. Así como en el caso de la inhibición por frío, la elevación de la temperatura desreprimía la inhibición, o en el caso de inhibidores químicos, tales como el IPC o el CIPC, al eliminar el producto bien por lavado o por evaporación, se anulaba esta inhibición, las tentativas hechas para provocar la germinación de los tubérculos irradiados tales como el tratamiento con etilen-clorhidrin ó con ácido giberélico, no dieron resultados positivos. Los tubérculos irradiados pudieron ser conservados sin brotar durante varios meses (hasta un año y medio), bien a temperatura ordinaria o bien para evitar su desecación, en un local ligeramente acondicionado a temperatura de 10-12°C.

Sobre el efecto estimulador de bajas dosis de irradiación, Süß comunicó en 1966 que en patatas de la variedad "Maritta", la dosis de 1 Krad sobre tubérculos, fué óptima para producir mediante su efecto estimulador, un aumento, tanto de la producción de nuevos tubérculos como de almidón.

Los primeros experimentos realizados en España sobre irradiación de patatas, comenzaron a principios de 1964 en el Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas (INIA). Utilizando la fuente de  $^{137}\text{Cs}$  de "El Encín", Fernández González (1966) irradió patatas de la variedad "Urgenta" a dosis de 5, 10 y 15 Krad, obteniendo que la dosis de 5 Krad fué suficiente para inhibir la brotación de los tu-

tubérculos. Las dosis de 10 y 15 Krad no hicieron más que confirmar este efecto de inhibición del poder multiplicativo de los meristemos. El tratamiento de los tubérculos irradiados mediante inmersión en soluciones de AG de 2,5 y 5 p.p.m., no fué capaz de inducir fenómenos de rebrotación en los tubérculos. A los 90 días después de haber sido irradiados, el tratamiento con 500 p.p.m. de AG tampoco logró el menor indicio de rebrotación.

En la Junta de Energía Nuclear de Madrid (J.E.N.) un grupo de investigadores (García de Mateos, Rivas, Ortín y del Val, 1967) trabajando con patatas de las variedades "Alava" y "Gineke", observaron que las irradiadas con dosis de 5 Krad sólo presentaron un 2% de brotación a los 90 días después del tratamiento. En estas mismas, se produjo un 14% de tubérculos brotados a los 132 días. Al final del tratamiento se llegó hasta un 30% de brotación. Las dosis superiores a 5 Krad, inhibieron la brotación en la totalidad de los tubérculos durante los nueve meses de la experiencia.

Durante el tiempo de la conservación se llevó también un control de la pérdida de peso, obteniendo los resultados siguientes:

-A los tres meses de almacenamiento fué de destacar que los lotes de máxima pérdida de peso fueron los testigo, seguidos de los de 15, 5 y 10 Krad respectivamente. El lote de 8 Krad fué el que perdió menos peso.

-Aproximadamente a los seis meses de conservación, las pérdidas de peso en los lotes de 8 Krad fueron de un

7,8%, mientras que en las mismas fechas los testigos ofrecían el 15,3%.

-A los nueve meses de conservación estos mismos valores fueron del 26,6% y del 50,3% respectivamente.

Para este tipo de observación concluyeron estos autores, que la dosis de 8 Krad fué la que dió un resultado mejor.

En los últimos seis años, los trabajos sobre irradiación de patatas han continuado en todo el mundo; algunos de ellos se reseñan a continuación.

Kahan y Temkin-Gorodeiski (1968), realizaron experiencias en las que las patatas de la variedad "Up-to-date" fueron irradiadas a dosis de 6, 10 y 14 Krad y almacenadas con posterioridad durante doce meses a las temperaturas de 40, 80, 140C y ambiente. La dosis de 6 Krad resultó dar un control incompleto de la brotación hacia las diez semanas después de la irradiación. Por el contrario, los tubérculos irradiados con 10 y 14 Krad dieron un estupendo control de la brotación hasta un año después, con independencia de las condiciones de almacenamiento posteriores a la irradiación.

Solanas y Darder (1968) irradiaron tubérculos de la variedad "Katahdin" con dosis de 1,25, 5, 10 y 20 Krad respectivamente, a un flujo de 0,6 Krad/h, almacenándolos luego a temperatura ambiente. A los ocho meses mostraron que, en los testigo, la pérdida de peso fué del 42%, mientras que en los irradiados a dosis de 5 Krad, fué del 9% y del 7% en aquellos irradiados a 10 Krad; la brotación fué suprimida alrededor de los 10 Krad, concluyendo que para perío-

dos cortos de almacenamiento (tres o cuatro meses), dosis de 5 Krad son suficientes para impedir la brotación y que para entonces la pérdida de peso es sólo de un 5%, mientras que para mayores períodos de conservación, la dosis ha de ser mayor, del orden de unos 10 Krad.

Nys (1970), en una comunicación sobre la irradiación de patatas como método antigerminante, dijo que una dosis de 8 Krad, aplicada a la intensidad de 2-2,5 Krad/m., es suficiente para inhibir completamente la brotación de manera irreversible, y que el método de las radiaciones ofrecía las siguientes ventajas:

- Una acción antigerminante total e irreversible y más completa que la acción de los inhibidores químicos.

- Un efecto directo sobre el cociente respiratorio que hace disminuir las pérdidas de peso.

Roushdy y colaboradores (1973) encontraron que el tratamiento mixto de las radiaciones con el ácido salicílico, producía mejores resultados que cualquiera de los dos aplicados aisladamente. Así, en la variedad "Alpha", obtuvieron la mejor conservación irradiando con 14 Krad los tubérculos que previamente se habían sumergido en una solución de 2.500 p.p.m. de ácido salicílico. Para la variedad "King Edward" en cambio, el tratamiento más favorable resultó combinando la pulverización con 4.000 p.p.m. de ácido salicílico y una dosis de 8 Krad.

Wills y Clouston (1973) con las variedades "Up-to-date", "Sebago" y "Sequoia", que habían sido tratadas con dosis de 5 Krad, obtuvieron resultados comercialmente buenos des-

pués de seis meses de almacenamiento a 6° y 20°C.

Matsuyama (1973) irradió tres variedades de patatas japonesas con dosis de 7-15 Krad durante el período de reposo y obtuvo buenos resultados, pero observó que era necesario incrementar la dosis para lograr los mismos efectos, si la irradiación se efectuaba tardíamente.

Finalmente Nair y colaboradores (1973), con patatas de la variedad "Up-to-date" y "Gola" irradiadas a dosis de 10 Krad y almacenadas a temperaturas de 15°, 20°, 26° y 30°C volvieron a confirmar el efecto positivo de las radiaciones en la conservación de los tubérculos.

#### 1.4.2.2. Influencia sobre yemas y meristemos

Los principales cambios citológicos que se observan en los meristemos vegetales por efecto de las radiaciones pueden ser, según Evans (1965), de tres tipos:

- Alargamiento del ciclo mitótico.
- Génesis de aberraciones cromosómicas.
- Pérdida de la capacidad de proliferación causada bien por una diferenciación prematura o bien por la muerte celular.

Evans, en sus experiencias con meristemos radiculares de Vicia faba L., observó que la muerte de las células sobrevino siempre en un período tardío de la interfase y que raramente estas células entraban en mitosis, lo cual daba como consecuencia la interrupción total del crecimiento de los meriste-

mos expuestos.

Pratt (1968) resume que el daño causado por las radiaciones sobre las células meristemáticas de distintas plantas se traduce en una ausencia de mitosis, incremento de la vacuolización, hipertrofia general, degeneración del núcleo, engrosamiento de las paredes celulares y en último caso, muerte de las células.

Este daño se distribuye en los meristemos apicales caulinares de distinta forma y según su distribución se han propuesto tres tipos de radiosensibilidad en los ápices vegetales.

Un primer tipo es aquel en el que las capas externas del meristemo son más radiosensibles que las regiones internas. Esta radiosensibilidad es llamada de "fuera hacia adentro", y ha sido ampliamente observada en algunos Gimnospermas en las que la zona apical inicial es la más radiosensitiva de todo el ápice del brote, y ha sido observada en *Taxus media* L. por Miksche y colaboradores (1962), en *Pinus halepensis* Mill. y *Pinus pinea* L. por Donini (1967), en *Picea glauca* (Moench) Voss por Cecich y Miksche (1970), en *Pinus rígida* Mill. por Bostrack y Sparrow (1969) etc...

En Angiospermas, por el contrario, la capa externa del ápice es más radiorresistente que la interna.

Este tipo de radiosensibilidad se denomina de "dentro hacia afuera" y ocurre en vid, manzano y melocotonero (Pratt 1959; Pratt y colaboradores 1959; Lapins y colaboradores 1969; Lapins y Hough 1970), en tomate (Kuehnert 1962), en *Coleus blumei* Benth (Crockett 1968), en *Antirrhinum majus* L. (Sekiguchi y colaboradores 1971), en *Cápsicum annum* L.

(Iqbal 1969, 1970 y 1972) y en otras muchas plantas. Como excepciones pueden citarse los tallos de clavel (Sagawa y Mehlquist 1957) y los ápices florales haploides del tomate (Gunckel y Sparrow 1961), en los que el daño afecta primero a la capa exterior del ápice.

El tercer tipo de distribución del daño causado por la irradiación es el llamado "al azar", tal como ha sido observado por Pratt en *Prunus* (1968).

El por qué de la distinta radiosensibilidad en las diferentes zonas de los ápices, no se sabe todavía a ciencia cierta y parece ser la consecuencia del estado fisiológico del núcleo.

Donini (1967) observó como respuesta a la radiación gamma sobre yemas de *Pinus halepensis* Mill. y *Pinus Pinaster* L., una inhibición mitótica de las células meristemáticas apicales y subapicales, seguida de necrosis de las yemas e incluso muerte de las plantas; pero pudo observar, gracias a las diferentes dosis aplicadas, diferencias en radiosensibilidad en las distintas zonas que componían el ápice. Las zonas meristemáticas que resultaron ser más radiosensibles fueron la inicial apical y la zona madre central, las cuales poseen una actividad mitótica relativamente baja, menor desde luego que la de las zonas tisulares periféricas, dándose el caso de que, mientras que las células de la zona apical inicial y madre central sufrían una inhibición mitótica total con la subsiguiente necrosis, las células de las regiones de los flancos del ápice continuaban dividiéndose activamente. Por esta razón, Donini sugirió que las zonas de actividad mitótica más alta eran más



radorresistentes que las zonas con proporción mitótica baja. Esto confirma la hipótesis de Van't Hoff y Sparrow (1963) según la cual, las células que se dividen más frecuentemente son más radorresistentes porque reciben menos dosis total durante un ciclo mitótico.

Como confirmación a esta hipótesis, Donini encontró regeneración de ápices a partir de las regiones laterales del meristemo (que son mitóticamente las más activas) al igual que Miksche y colaboradores (1962), que también observaron este fenómeno de desarrollo de nuevos meristemos a partir de la región de los flancos en *Taxus media* L. y que Cecich y Miksche (1970) en *Picea glauca* (Moench) Voss.

En ápices de *Pinus rigida* Mill. Bostrack y Sparrow (1969) también pudieron observar prácticamente todos los efectos que sobre los meristemos caulinares producen las radiaciones y así comprobaron la necrosis de las yemas terminales, desorganización de los meristemos apicales, reducción de la actividad del cámbium vascular, retraso de la lignificación de los elementos del xilema, meristemos en forma de cúpula aplanada etc... Además encontraron una acumulación de taninos en las células del parénquima subapical de la médula, acumulación que ellos asociaron con la proximidad de los tejidos necrosados.

En Angiospermas, Pratt (1968) observó en yemas de cerezo, desorganización total de los ápices debido al crecimiento excesivo de sus células, las cuales aparecieron rotas, con pérdida total de la estratificación e incluso desaparición de las capas de la túnica.

Lapins y Hough (1970) en yemas de manzano y melocotonero observaron igualmente deformación y necrosis de ápices, disminución o ausencia de mitosis, incremento del tamaño de las células, vacuolización, picnosis de los núcleos e incluso pérdida y desaparición del contenido celular. Observaron también el fenómeno de la regeneración de los ápices a partir de unas pocas células activas que formaron islas de células vivas dentro del ápice inactivo. Esta regeneración tuvo lugar normalmente a partir de los flancos, en las proximidades de los primordios foliares, originando con frecuencia ápices bifurcados. Esta dicotomía del brote se produjo con más frecuencia en manzano que en melocotonero (Lapins y colaboradores 1969). En algunos casos, esta regeneración también se verificó desde el meristemo medular.

En los trabajos de Iqbal (1969, 1970 y 1972) sobre ápices de *Capsicum annum* L. se sigue confirmando la mayor radiorresistencia de la región de los flancos de los ápices con respecto a las zonas centrales, así como el tipo de radiosensibilidad de dentro hacia afuera. En sus resultados observó desorganización de túnica y corpus, hipertrofia celular, picnosis de núcleos, inhibición de mitosis etc... que representan el cuadro sintomático constante producido por las radiaciones al incidir sobre los meristemos apicales.

La característica casi general de que las zonas centrales de los ápices son más radiosensibles que los flancos, ha sido también observada por otros autores tales como Sekiguchi y colaboradores (1971) en *Antirrhinum majus* L. y Lange-nauer y colaboradores (1973) en *Parthenocissus tricuspidata*,

Siebold y Zucc.

Según varios autores, se ha comprobado que las yemas axilares presentan una mayor radiorresistencia que las apicales.

Donini (1967) encontró que los meristemos axilares de las dos especies de *Pinus* con las que trabajó, fueron más radiorresistentes que los apicales. Debido a que las yemas en estado durmiente tienen un volumen nuclear más pequeño que las que se encuentran en estado activo (Sparrow y colaboradores 1963 b y Taylor 1966), es posible achacar esta mayor radiorresistencia de las yemas axilares a que están en estado de reposo y, por tanto, con un volumen nuclear más pequeño, con lo cual, absorben menos dosis por núcleo según la hipótesis de Sparrow y colaboradores (1963a).

Esta última relación entre radiorresistencia y volumen nuclear de las yemas axilares viene apoyada por numerosos trabajos, entre ellos los de Pratt (1967) que encontró que, meristemos axilares de manzano y melocotonero, pueden sobrevivir a dosis letales para el meristemo apical.

Sparrow y colaboradores (1968) comprobaron que dentro de una especie, los núcleos de las yemas en crecimiento activo son por término medio 1,65 veces más grandes que los de las yemas durmientes, y que los núcleos de las yemas apicales, son 1,25 veces más grandes que los de las axilares. Esta diferencia en volúmenes nucleares (y en ICV por consiguiente) es la que, según estos autores, determina las distintas radiosensibilidades.

Bostrack y Sparrow (1969), en *Pinus rigida* Mill., observaron una proliferación de yemas axilares atribuida a su mayor radiorresistencia (debida a su menor NV) y a la supresión fisiológica del meristemo apical. Estas yemas axilares reemplazaron al meristemo terminal necrosado; no obstante, en algunos casos también hubo muerte de yemas laterales, debido, suponen ellos, a un efecto indirecto de la irradiación como resultado de una reducción de la disponibilidad de metabolitos esenciales, ocasionada por la supresión que produce la irradiación de determinadas actividades fisiológicas.

Trabajos posteriores han seguido demostrando que las yemas menos activas, son más resistentes a la irradiación (Sekiguchi y colaboradores 1971).

Según Gómez-Campo (1973 y 1974) en estudios realizados sobre *Bryophyllum tubiflorum* Harv., la distinta radiosensibilidad de los meristemas está condicionada por su volumen, resultando que un volumen menor determina una mayor radiorresistencia.

En ápices de patata, Rubin y Metlitskii (1958), comunicaron que las células meristemáticas de los tejidos de las yemas, pierden su poder de división al ser irradiadas y que las células de los primordios foliares formadas antes de la irradiación, aumentan de tamaño y se vuelven elongadas y altamente vacuolizadas. Otro rasgo característico de la estructura anatómica de estas yemas incapaces de brotar es que todos sus constituyentes celulares, con la excepción del procámbium, presentan una gran semejanza en cuanto a forma y tamaño. De esta manera, la heterogeneidad tan típica de los tejidos

de estos órganos en su estado normal, desaparece como consecuencia de la irradiación. Así mismo observaron una enorme desorganización de la túnica, de las capas subyacentes y de las hojas, apareciendo aspectos y formas completamente anormales en la morfología general de las yemas. Por otra parte, el contenido en ácidos nucleicos en estas yemas irradiadas, difirió notablemente del encontrado en las células de las yemas normales. En las irradiadas, hubo una reducción del DNA nuclear y del RNA citoplásmico, tiñéndose ambos tipos de ácidos nucleicos con bastante dificultad. Estos drásticos cambios en los tejidos de las yemas, fueron una de las razones por las que la irradiación hizo perder a los tubérculos su capacidad para brotar.

Estos mismos autores observaron que cuando la irradiación se verificó en una fase muy avanzada del período de reposo, es decir, cercana ya la brotación, se acentuaron todavía más todos estos fenómenos y en particular la reducción de RNA citoplásmico en las yemas. Este dato está en línea con la mayor radiosensibilidad que ofrecen las células que han salido de su estado de reposo. Este descenso en RNA podría ser debido a la activación de la ribonucleasa.

Apoyando la hipótesis de Rubin y Metlitskii sobre la activación de esta enzima, Pitt y Galpin (1971), encontraron que el daño mecánico ejercido sobre las hojas y sobre los tubérculos de patata, originaban un espectacular incremento en la actividad de la ribonucleasa durante un período de tiempo relativamente prolongado después del daño.

Pitt (1971) opina que la ribonucleasa de los tubérculos,

se encuentra encerrada en los lisosomas y activada sólo parcialmente durante los procesos metabólicos normales, pero que, cualquier daño inferido a los lisosomas como consecuencia de alguna alteración o herida en la célula, puede originar una liberación mayor de esta enzima al citoplasma.

Teniendo en cuenta que la irradiación es un tipo de daño que puede producir roturas en las membranas internas celulares, es muy posible que cause la liberación de enzimas hidrolíticos, los cuales serían responsables de la destrucción de los ácidos nucleicos.

Ora Smith, en su revisión hecha en 1968, también encontró sobre este tema las afirmaciones de que con dosis comprendidas entre 0,5 y 2 Krad, se estimula la síntesis de los ácidos nucleicos y por tanto el crecimiento de las yemas de patata, mientras que con dosis comprendidas entre 5 y 50 Krad, el contenido en DNA y RNA decrece con arreglo a la dosis empleada, siendo inhibida la síntesis de los mismos a medida que aumenta la dosis de irradiación.

#### 1.4.2.3. Efecto sobre los mecanismos de defensa de los tubérculos

##### 1.4.2.3.1. Peridermo de defensa

Uno de los mecanismos de defensa que poseen los tubérculos para luchar contra las infecciones de los microorganismos existentes en el medio que les rodea, consiste en la capacidad de formar un peridermo de defensa

en las zonas que se dañan como consecuencia de heridas, cortes u otras lesiones mecánicas.

Este peridermo consiste en una proliferación de células de la zona dañada, que forman una barrera constituida por capas de células alargadas y cuya pared se impregna de suberina.

La capacidad de formación del peridermo de defensa es diferente en los distintos tejidos del tubérculo, siendo las zonas más activas las de los haces vasculares y regiones adyacentes, y las menos, las de la médula (Metlitskii y Ozeretskorskaya 1968).

Las radiaciones, en su acción inhibidora sobre la división celular, impiden también la formación del peridermo de defensa.

Rubin y Metlitskii (1958) investigaron la capacidad que tenían los tubérculos irradiados para formar cicatrices y suberificar el peridermo, encontrando que una dosis de 10 Krad no afectaba a la suberificación pero detenía completamente la formación del peridermo y por tanto, impedía la cicatrización.

Wagonner (1965), Sawyer (1967), Metlitskii y Ozeretskorskorskaya (1968), comunicaron también que la irradiación de los tubérculos a dosis de 10-20 Krad impedía totalmente la formación del "wound periderm" debido, entre otras posibles razones, a la inhibición de las divisiones celulares.

Penner (1970) afirma y basa su test de identifica-

ción de patatas irradiadas precisamente en la imposibilidad que tienen estos tubérculos de formar el peridermo de defensa.

#### 1.4.2.3.2. Taninos

Otra de las características generales que se observa en los tubérculos irradiados, es la acumulación de taninos como respuesta al daño sufrido por la radiación.

Los taninos son un grupo de sustancias producidas por las plantas y cuya misión parece ser principalmente la de evitar las infecciones, ya que sus grupos fenólicos impiden el desarrollo de los microorganismos.

Cuando un tubérculo de patata recibe un daño, se produce en él un marcado incremento en el contenido de polifenoles en los tejidos de la zona afectada (Zucker 1963 y 1965; Metlitskii y Ozeretskovskaya 1968). Además de estos compuestos se observa un aumento en la actividad de las polifenoloxidasas, que al oxidar las sustancias fenólicas producen unos compuestos de un poder tóxico más elevado (Hyodo y Uritani 1966; Kawashima y Uritani 1965; Ogawa y colaboradores 1968 y Kilian y colaboradores 1972).

Dupuy y Usciati (1966) relacionaron la inhibición del crecimiento de las yemas de patata con la formación de alguna sustancia química quizás de tipo polifenólico. Para ello comprobaron el crecimiento de *Escherichia coli* en



medios de cultivo adicionados con extractos de patata irradiada y no irradiada, extractos que procedían de la zona cortical del tubérculo, observando que en los extractos procedentes de tubérculos irradiados no se producía el crecimiento de estos microorganismos. Esta respuesta de los tubérculos a la acción de las radiaciones es análoga a la observada como respuesta a las heridas y cortes ya que posteriormente varios autores han detectado también un aumento en los compuestos fenólicos del tubérculo como consecuencia de la irradiación (Ogawa y colaboradores 1968; Smith 1968; Kilian y colaboradores 1972).

No obstante, los resultados de Ogawa y colaboradores (1968) indican que aunque la irradiación gamma incrementa el contenido en polifenoles de los tubérculos, este aumento es menor que el ocasionado como respuesta a los cortes.

De manera análoga a estas observaciones sobre el incremento de taninos encontrados en tubérculos irradiados, Bostrack y Sparrow (1969), detectaron en ápices de *Pinus rigida* Mill., una acumulación de taninos en las células del parénquima subapical de la médula correspondiente al meristemo inhibido por la radiación.

#### 1.4.2.3.3. Infecciones

Existe, en cierto modo, contradicción en los resultados obtenidos por distintos autores sobre la influencia

de la radiación sobre el grado de susceptibilidad de los tubérculos a las enfermedades microbianas.

Para Rubin y Metlitskii (1958), todos los cambios metabólicos ocasionados en las patatas después de la irradiación, influyen lógicamente la inmunidad de los tubérculos frente a los microorganismos ya que esta propiedad biológica está íntimamente ligada a los sistemas oxidativos de sus tejidos. Sus observaciones pusieron de manifiesto que inmediatamente después de la irradiación con dosis de 10 Krad, los tubérculos se infectaron con más facilidad que los controles no irradiados, detectando la presencia de los hongos *Fusarium* y *Phytophthora* principalmente, que son agentes patógenos que suelen atacar a las patatas durante su almacenamiento.

Fernández González (1966) encontró que las patatas irradiadas fueron especialmente más sensibles que las testigo a la infección por el *Bacillus Phytophthorus*, Appel (podredumbre húmeda).

García de Mateos y colaboradores (1967) encontraron que a los cuatro meses de empezadas sus experiencias, apareció el *Fusarium solani* (Mart) Sacc. (podredumbre seca) en un 26 de los tubérculos tanto irradiados como testigo. Al final del período de observación (nueve meses) hubo un 10% de infecciones en los controles mientras que en los irradiados a dosis de 8 Krad sólo hubo un 4%. En los lotes que recibieron 20 y 50 Krad se observó un número elevado de infecciones.

Ogawa y colaboradores (1968) observaron que los tubérculos irradiados a dosis comprendidas entre 5 y 12,4 Krad mostraron una acción defensiva, frente a la infección de *Ceratocystis fimbriata*, mayor que los no irradiados. A 22,4 Krad por el contrario, los tubérculos mostraron menos acción defensiva, probablemente debido al daño parcial del tejido por la irradiación.

Wills y Clouston (1973), trabajando con tubérculos de la variedad "Kennebec", comprobaron que la dosis de 5 Krad produjo a los 4 meses de almacenamiento un alto grado de infección que impidió la aceptabilidad de los tubérculos.

Nair y colaboradores (1973), en patatas de la variedad "Up-to-date" y "Gola", encontraron una ligera tendencia a la infección en las patatas irradiadas con 10 Krad, siendo la podredumbre tanto mayor cuanto más alta fué la temperatura de almacenamiento. En sus resultados, la temperatura idónea para obtener las mínimas pérdidas fué la de 15°C, mientras que las temperaturas superiores a 20°C dieron una considerable pérdida de tubérculos debido a las infecciones.

Como conclusión de estas observaciones se puede decir que en general los tubérculos irradiados presentan un mayor grado de susceptibilidad a las infecciones, aunque pueden ser controladas en parte por las condiciones de almacenamiento.

#### 1.4.2.4. Pruebas para la identificación de patatas irradiadas

Uno de los problemas que se plantea para la aprobación de los alimentos irradiados, es la posibilidad de su identificación como tales. En este sentido, se han realizado numerosos esfuerzos por los investigadores de los países que intentan introducir esta tecnología para la conservación de alimentos, en orden a conseguir pruebas inequívocas que pongan de manifiesto si el producto en cuestión ha sido tratado por irradiación o no.

Debido a que uno de los efectos que produce la irradiación sobre el material biológico se traduce en alteraciones en su composición química, los primeros intentos que se realizaron para tratar de identificar alimentos irradiados estuvieron basados en el análisis químico de sus componentes con idea de establecer diferencias con los controles no irradiados.

Ya desde un principio se vió la dificultad que entrañaba el tratar de identificar sustancias indicadoras de la irradiación, así como de correlacionar inequívocamente las variaciones en la composición con la dosis recibida por el material. El principal problema provenía de que las diferencias en los índices bioquímicos se observaban con claridad a partir de unas dosis muy superiores a las requeridas normalmente para la conservación de alimentos. Por este motivo se han intentado desarrollar nuevas pruebas utilizando bioensayos en los que se estudian directamente sobre el material irradiado las alteraciones producidas a nivel biológico.

Saint-Lebe y colaboradores (1970), Morre (1970) y Scherz (1970a) en un intento de establecer diferencias basadas en los índices bioquímicos, fijaron su atención en los productos de radiolisis del almidón principalmente, aldehído malónico, aldehído fórmico y peróxido de hidrógeno entre otros, pero encontraron que para dosis bajas de irradiación era imposible el establecimiento de estas diferencias.

Scherz (1970 b), basándose en que la irradiación produce un decrecimiento en la conductividad eléctrica de los tubérculos de patata, realizó una serie de experiencias en las que pudo correlacionar, en parte, la dosis recibida con la conductividad, siendo válido el test para dosis comprendidas entre 0 y 100 Krad.

Penner (1970) apoyándose en la incapacidad de formación del peridermo de defensa que tienen las patatas irradiadas, trató de establecer un test que dió resultado positivo al compararlas con las testigo, siendo válido este test incluso para establecer diferencias entre distintas dosis de irradiación de hasta 10 Krad.

Como resumen de todos estos esfuerzos, la Dirección de Protección Sanitaria perteneciente a la Comisión de Comunidades Europeas (CEE) y la Bundesforschungsanstalt für Lebensmittelfrischhaltung, han organizado varios coloquios Internacionales, el último de los cuales tuvo lugar en Karlsruhe durante los días 24 y 25 de Octubre de 1973, sobre la identificación de productos alimenticios irradiados y en el que se pueden considerar

como recopilados los trabajos más significativos que se han realizado en este campo.

Sobre patatas irradiadas, Scherz (1973) y Onderdelinden y colaboradores (1973), refieren sus estudios en el empleo del test basado en la conductividad.

Penner (1973) continúa sus investigaciones sobre la inhibición de la división celular por efecto de las radiaciones y como consecuencia la imposibilidad de formar el peridermo de defensa.

Sandret y colaboradores (1973), basándose también en la inhibición de la división celular, comunicaron la posibilidad de establecer un camino para la identificación de patatas irradiadas, mediante la observación del desarrollo del tejido de parénquima del tubérculo cultivado in vitro o mediante la siembra de trozos de tubérculo en tiestos con arena húmeda comprobando la inhibición que las radiaciones ejercen sobre la brotación.

Baraldi (1973), utilizando tubérculos completos, observó que sumergiéndolos en soluciones de cinetina a 500 p.p.m. y de ácido giberélico a 300, 400 y 500 p.p.m., los tubérculos irradiados no brotaban mientras que tanto los testigo como los tratados con IPC-CIPC, sí que lo hacían, valiendo esta prueba como identificadora.

Por las consideraciones anteriores y en el estado actual de los conocimientos, los test basados en la inhibición de la división celular producida por las radiaciones, parecen ser los más prometedores en el caso de los tubérculos de patata.

#### 1.4.2.5. Aprobación legal del consumo de patatas irradiadas

Los alimentos irradiados, hasta su aprobación definitiva por los diferentes países, han sido estudiados muy detenidamente en orden a la repercusión sobre la salud pública.

El posible peligro que representaría la utilización de estos alimentos, podría ser debido a que resultaran radiactivos o a que por acción de las radiaciones se produjese en ellos una serie de sustancias más o menos tóxicas.

En el primer caso, la radiactividad de los alimentos podría ser debida a radiactivación causada por la energía radiante, o a radiocontaminación ocasionada por el contacto directo del producto con la fuente radiactiva.

La posibilidad de radiactivación es prácticamente nula. Para que se produjese ésta, la energía de la radiación debería ser lo suficientemente grande como para originar la aparición de nuclidos radiactivos, necesitándose para el caso de los rayos gamma, energías superiores a los 5 MeV, que según se estima, es el umbral de posible aparición de radiactividad inducida. No hay peligro por tanto, de que haya radiactivación ya que la energía emitida por los rayos gamma del  $^{60}\text{Co}$  es de 1,17 y 1,33 MeV, y para los del  $^{137}\text{Cs}$ , de 0,66 MeV.

El peligro de radiocontaminación se puede anular siguiendo las más elementales precauciones que permiten

evitarlo, siendo suficiente para ello la utilización de fuentes encapsuladas y sometidas a control periódico.

La posible formación de sustancias directa o indirectamente tóxicas, se ha estudiado por la repercusión que pueden tener sobre la alimentación de animales y del hombre.

En patatas concretamente, se ha pensado mucho en la aparición eventual de sustancias cancerígenas por lo que se han hecho y se siguen haciendo pruebas con animales de laboratorio para comprobar la inocuidad de las mismas, sin que hasta la fecha se tenga motivo alguno para pensar que no se puedan utilizar para el consumo humano. Esto último viene motivado porque las dosis de radiación necesarias para inhibir la brotación de las patatas, son muy bajas y débiles en comparación con las necesarias para producir la aparición de sustancias nocivas en los tejidos del tubérculo.

Un grupo de investigación del Departamento de Sanidad de Paris (D.S.P. y la Sociedad Conservatorie de Lyon) (1958) dijo que la irradiación, como método de impedir la brotación de las patatas en almacenamiento, no producía ningún cambio en las características orgánolépticas de las mismas ni debilitaba apreciablemente el valor de los compuestos nutritivos esenciales.

Rubin y Metlitskii (1958) para dar una respuesta a si las patatas irradiadas pueden o no ser utilizadas para la alimentación, ensayaron en el Instituto de Nutrición de



la Academia de Ciencias Médicas de la U.R.S.S. tubérculos que habían sido irradiados a dosis de 10.000 rads. Las pruebas biológicas fueron llevadas a cabo en dos generaciones de animales (ratas y perros). Estos autores no encontraron diferencias en los experimentos con animales alimentados con patatas irradiadas respecto al crecimiento, desarrollo, comportamiento, morfología y fisiología de la sangre, al compararlos con otros animales alimentados con patatas no irradiadas. Tampoco hubo ninguna diferencia en la descendencia, que no reveló cambios significativos en el desarrollo de los animales en experimentación. El examen morfológico de los órganos de los animales no mostró ningún cambio patológico, demostrándose así los efectos inofensivos de las patatas irradiadas sobre los animales de sangre caliente. Una valoración organoléptica de las patatas irradiadas después de tres meses de almacenamiento, demostró que no se habían producido cambios ni en el gusto ni en sus propiedades culinarias con respecto a los controles.

Apoyándose en todas estas pruebas, la Inspección Central de la U.R.S.S. autorizó el uso de la patata irradiada hasta dosis de 10 Krad para el consumo humano.

El primer irradiador a escala comercial designado para productos alimenticios, fué construido en la U.R.S.S. en 1964, por el Dzerzhinskii Fruit and Vegetable Base de Moscú.

Lang y Bässler (1966) estudiaron el valor

nutritivo y la inocuidad de las patatas irradiadas a 10 y a 100 Krad mediante diversos experimentos con ratas, en los que su régimen alimenticio estaba compuesto de un 72% de patata irradiada, un 15% de caseína, un 10% de grasa y un 3% de sales. Los grupos testigo recibieron el mismo tipo de alimentación pero con patatas no irradiadas. Concluyeron de sus observaciones que no había ninguna diferencia en lo que se refiere a ganancia de peso ni a rendimiento en proteína entre las ratas alimentadas con patatas irradiadas y las testigo.

Varela y Moreiras (1966) en sus ensayos realizados con ratas, observaron que las patatas irradiadas a 8 Krad no presentaron diferencias significativas con respecto a los controles en los siguientes aspectos: ingesta, aumento de peso, coeficiente de digestibilidad de proteínas, coeficiente de digestibilidad de grasa, energía metabolizable, calorías netas ingeridas y coeficiente de eficacia en rendimiento. La única disminución encontrada por el tratamiento, fué en lo que respecta a nutrientes digestibles totales y energía neta por kg de sustancia seca. Por otra parte, la irradiación a esta dosis, aumentó significativamente la digestibilidad de la sustancia seca así como la de las materias extractivas libres de nitrógeno.

Vidal (1970) resumió las experiencias a gran escala que habían sido realizadas con animales (ratas y cerdos) así como de los test en poblaciones humanas, llevados a cabo en Dinamarca, Canadá, U.S.A. e Israel

en los que se hicieron distintas pruebas sobre la comestibilidad de las patatas irradiadas, resultando de todo ello un informe favorable hacia dicha consumición. Informe al que se suman los resultados obtenidos por Nair y colaboradores (1973) y por Matsuyama (1973).

Pomarola (1970) trabajando con patatas irradiadas a dosis de 10, 15, 25 y 50 Krad, no constató ninguna diferencia con los lotes testigo en cuanto a cantidad y a calidad de los azúcares, no encontrando productos de degradación de la sacarosa, glucosa, fructosa, ni del ácido ascórbico. Según este autor, es necesario utilizar dosis muy elevadas, del orden de 100 Krad, para que se produzcan productos de degradación.

Un comité mixto de expertos de la FAO/IAEA/OMS reunidos en Ginebra en Abril de 1969, proyectaron un programa de estudios orientado a investigar sobre la inocuidad de las patatas irradiadas, comprendiendo este estudio:

- a) -Experiencias con un número suficiente de animales de laboratorio sobre la posible influencia de los tubérculos irradiados sobre la descendencia.
- b) -Evaluación de la posible cancerogenicidad de estos alimentos irradiados.

Para realizar estos estudios se hicieron contratos que fueron asignados, el primero al "Huntingdon Research Centre" en Inglaterra, y el segundo al "Centre de Re-

cherche et d'Élevage des Oncins"(CREDO) de Saint-Germain-sur-l'Arbresle, en Francia. Los contratos estipulan que las patatas irradiadas deben constituir un 35% del régimen alimenticio total. Los trabajos han comenzado en el otoño de 1971 y deberán finalizar para la próxima reunión del Comité de Expertos prevista para 1974.

Como resultado de todos estos experimentos y dada la inocuidad que parecen presentar para la salud pública las patatas irradiadas, se ha aprobado su comercialización en los distintos países que se detallan en la Tabla I.

Tabla I.- Relación de países que tienen aprobada la comercialización de patatas irradiadas, mediante radiación gamma, para el consumo humano . (Datos tomados de Food Irradiation Information nº 2 1973).

Pais	Fuente de radiación	Dosis Krad	Fecha de aprobación
U.R.S.S.	$^{60}\text{Co}$	10	14 - Mar. 1958
Canadá	$^{60}\text{Co}$	10 max 15 max	9 - Nov. 1960 14 - Jun. 1963
U.S.A.	$^{60}\text{Co}$	5-10	30 - Jun. 1964
	$^{137}\text{Cs}$	5-10	2 - Oct. 1964
	$^{60}\text{Co} + ^{137}\text{Cs}$	5-15	1 - Nov. 1965
Israel	$^{60}\text{Co}$	15 max	5 - Jul. 1967
O.M.S.*	$^{60}\text{Co}$ o $^{137}\text{Cs}$	15 max	12 - Abr. 1969
España	$^{60}\text{Co}$	5-15	4 - Nov. 1969
Hungria	$^{60}\text{Co}$	10	23 - Dic. 1969
	$^{60}\text{Co}$	15 max	10 - Jun. 1972
Holanda	$^{60}\text{Co}$	15 max	23 - Mar. 1970
Japon	$^{60}\text{Co}$	15 max	30 - Agos. 1972
Francia	$^{137}\text{Cs}$ y $^{60}\text{Co}$	7,5-15	8 - Nov. 1972

\* O.M.S. - Organización Mundial de la Salud.

## 2. MATERIAL Y METODOS

## 2. MATERIAL Y METODOS

### 2.1. TUBERCULOS DE PATATA

#### 2.1.1. Variedades utilizadas

Se emplearon tubérculos de patata (*Solanum Tuberosum* L.) de la variedad semitemprana "Arran Banner," sembrados en primavera y recogidos en otoño.

Estos tubérculos se caracterizan por tener una piel blanca-amarillenta y una carne de color blanco. Tienen una brotación rápida, lo cual es un inconveniente para su conservación.

En estudios paralelos realizados a lo largo de los tres últimos años, con las variedades " Bintje," "Palogan", "Turia", "Arran Banner" y "Desirée," no se encontraron diferencias aparentes entre ellas en cuanto a sus respuestas frente a los tratamientos realizados.

#### 2.1.2. Irradiación

Los tubérculos fueron irradiados con rayos gamma, en la unidad "Náyade" de  $^{60}\text{Co}$  de la Junta de Energía Nuclear.

Las condiciones de irradiación fueron las siguientes:

Flujo .- 3,53 Krad/min

Dosis .- 3, 6, 9 y 12 Krads

Energía de las radiaciones del  $^{60}\text{Co}$  - 1,17 y  
1,33 MeV.

Temperatura .- 23°C

La dosis de irradiación se determinó por dosimetría Fricke según el método tradicional (ASTM. Standards. Part 29 (1967) 735).

La irradiación se llevó a cabo en dos épocas diferentes de la vida del tubérculo. La primera (irradiación temprana) se realizó a mediados de Diciembre, un mes después de la recolección, en pleno período de reposo. El hecho de esperar un mes, tuvo por objeto permitir la formación del "wound periderm" en los tubérculos dañados, ya que la irradiación inhibiría este proceso de cicatrización, con lo que aumentarían las pérdidas debido a infecciones microbianas.

La segunda irradiación fué efectuada a mediados del mes de Enero, poco antes del comienzo natural de la brotación (irradiación tardía).



#### 2.1.3. Condiciones de almacenamiento

Los tubérculos, después de recolectados, se almacenaron en obscuridad, con ventilación suficiente, a una temperatura media de  $10^{\circ}\text{C} \pm 2$  y a una humedad relativa media del 72%.

De cada tratamiento se hicieron dos lotes. Uno, que se mantuvo intacto durante toda la experiencia, estuvo dedicado al control visual de la brotación, y el otro fué utilizado en los ensayos destructivos (histología, cultivo de tejidos, injertos, pruebas de brotación inducida etc...). El lote destinado al control de la brotación estuvo compuesto de cincuenta tubérculos numerados y agrupados en tres tamaños (grandes, medianos y pequeños).

#### 2.1.4. Control de la brotación

Durante el período de almacenamiento, se llevó quincenalmente un control de la brotación desde mediados del mes de diciembre hasta mediados del mes de Mayo. En las observaciones se anotó el número de brotes por tubérculo y la longitud de los mismos.

## 2.2. TECNICAS HISTOLOGICAS

### 2.2.1. Toma de muestras

A lo largo del período de almacenamiento (Diciembre-Mayo) se efectuó la toma de muestras de yemas para su estudio histológico.

En el momento de la irradiación, tanto temprana como tardía, se efectuó una toma de muestras para comprobar el estado de desarrollo de las yemas. En los tubérculos irradiados que se dejaron para el estudio histológico, se señalaron las yemas que se debían considerar, deduciéndose el estado de desarrollo de éstas a partir de las observaciones efectuadas en las muestras. En cada toma se escogieron seis yemas representativas por tratamiento.

La fijación se verificó en F.A.A. (etanol de 70%, formaldehído y ácido acético glacial en la proporción de 90:5:5) durante 24 horas, y se utilizó el alcohol de 70% para la conservación hasta el comienzo de la inclusión en parafina.

### 2.2.2. Inclusión en parafina

Las muestras fijadas y conservadas en alcohol de

70% fueron sometidas a los procesos de deshidratación total, infiltración en parafina e inclusión.

Como agente deshidratante fué utilizado el alcohol y para hacer la infiltración en parafina se tuvo que pasar el material a un disolvente de la misma, escogiendo, en nuestro caso, el xilol. El paso del material del alcohol absoluto al xilol, se realizó a través de distintas soluciones intermedias, y el tiempo de permanencia en las mismas fué el siguiente:

Alcohol de 85%	. . . . .	1 hora
Alcohol de 95%	. . . . .	1 hora
Alcohol de 100%	. . . . .	1 hora
Alcohol-xilol (1:1)	. . . . .	1 hora
Xilol I	. . . . .	1 hora
Xilol II	. . . . .	1 hora
Xilol-parafina (3:1)	. . . . .	5 horas a 60°C
Parafina (p.f. 57°C)	. . . . .	un mínimo de 12 horas a 60°C y en agitación.

Para todos estos pasos se utilizó un procesador de infiltración automática "Shandon Elliot".

Una vez realizada la infiltración, se efectuó la inclusión en parafina del mismo tipo y los bloques formados se almacenaron en nevera hasta el momento del corte.

### 2.2.3. Corte con microtomo

Los bloques formados con la parafina, se tallaron en

forma tronco-piramidal, se colocaron en una platina metálica, se cortaron con un microtomo de tipo "Minot" calibrado para un espesor de 10  $\mu$  y se fijaron a los portas con albúmina, almacenándose a continuación en una estufa a 30°C durante 24 horas.

#### 2.2.4. Tinciones utilizadas

##### 2.2.4.1. Hematoxilina de Delafield

El colorante se preparó de la siguiente forma:

Se disolvió 1 g. de hematoxilina en 6 ml. de alcohol absoluto. Se disolvieron aparte 15 g. de sulfato aluminico amónico en 100 ml. de agua destilada caliente y se filtraron después de que se hubo enfriado la solución. Se mezclaron las dos soluciones preparadas y se dejó la mezcla expuesta a la luz en un frasco de boca ancha (abierto) durante tres días, al cabo de los cuales se filtró. El filtrado se mezcló con 25 ml. de glicerina pura y 25 ml. de alcohol metílico. Después de tres días se volvió a filtrar.

La hematoxilina así preparada se dejó madurar durante dos meses por lo menos antes de su uso.

Los cortes pegados a los porta, se tiñeron por el procedimiento siguiente:

Xilol I . . . . .	10 minutos
Xilol II . . . . .	10 "
Xilol-alcohol 100 $\Omega$ -1:1 .	3 "
Alcohol 100 $\Omega$ . . . . .	3 "
Alcohol 95 $\Omega$ . . . . .	3 "
Alcohol 70 $\Omega$ . . . . .	3 "
Hematoxilina . . . . .	8 "
Agua . . . . .	1 "
Alcohol 70 $\Omega$ . . . . .	3 "
Alcohol 100 $\Omega$ . . . . .	3 "
Alcohol-xilol 1:1 . . .	5 "
Xilol . . . . .	8 "

Después de concluido el tiempo de permanencia en el xilol, los cortes se montaron en Bálsamo del Canadá, según el procedimiento normal.

Con esta tinción se observó la estructura general de la yema, ya que la hematoxilina tiñe principalmente las paredes celulares (celulósicas), los núcleos y el tejido amilífero.

#### 2.2.4.2. Tinción con Safranina-fast-green

La solución de safranina se preparó disolviendo 1 g. del colorante en 50 ml. de metil-cellosolve, añadiendo después 25 ml. del alcohol de 95 $\Omega$ . Se disolvió aparte 1 g. de acetato sódico en 2 ml. de formal-

dehido del 40% y 25 ml. de agua. Se mezclaron las dos soluciones y el colorante quedó listo para ser utilizado inmediatamente.

La solución de fast-green se preparó mezclando una solución saturada del colorante en alcohol absoluto y metil cellosolve (1:1<sup>V/V</sup>) con una mezcla de alcohol absoluto y aceite de clavo en proporción 1:3.

Los cortes pegados al porta se tiñeron por el procedimiento siguiente:

Xilol I	. . . . .	10 minutos
Xilol II	. . . . .	10 "
Xilol-alcohol 100% 1:1	. . . . .	3 "
Alcohol 100%	. . . . .	3 "
Alcohol 95%	. . . . .	3 "
Alcohol 70%	. . . . .	3 "
Safranina	. . . . .	24 horas
Agua	. . . . .	1 minuto
Alcohol 95%, Acido pícrico.	. . . . .	10 segundos
Alcohol 95%, Amoniaco	. . . . .	1 minuto
Alcohol 100%	. . . . .	5-10 minutos
Fast-green	. . . . .	10-15 segundos
Aceite de clavo	. . . . .	5 segundos
Aceite de clavo, Alcohol		
100%, xilol 2:1:1	. . . . .	5 segundos
Xilol y unas gotas de		
alcohol 100%	. . . . .	5 segundos
Xilol I	. . . . .	2 minutos
Xilol II	. . . . .	1 minuto

Después de concluído el tiempo de permanencia en el xilol, los cortes se montaron en Bálsamo del Canadá como en el caso anterior.

Con esta tinción de contraste se observó la estructura general del brote, ya que la safranina tiñe específicamente los núcleos y las paredes celulares cutinizadas, suberificadas o lignificadas, y el fast-green, además de teñir las paredes celulósicas y estructuras vivas del citoplasma, actúa como diferenciador de la safranina.

#### 2.2.5. Observaciones

En la observación de las preparaciones se tuvieron en cuenta las siguientes características:

- Existencia o no de mitosis.
- Estado de la túnica, tanto de la capa externa como de la interna.
- Vacuolización precoz de la médula y primordios foliares.
- Vacuolización del corpus y del cámbium apical.
- Degeneración de los núcleos de la médula y de los primordios foliares.
- Degeneración de los núcleos del corpus y del cámbium apical.
- Destrucción total o parcial del ápice de la yema.

## 2.3. CULTIVO DE YEMAS "IN VITRO"

### 2.3.1. Medio utilizado

#### 2.3.1.1. Medio base

Se escogió el medio Heller, cuya composición se detalla en la Tabla II, por ser el que proporcionó mejores resultados de brotación en un ensayo previo que realizamos comparando los principales medios utilizados comúnmente para cultivo de tejidos vegetales (Gautheret 1959).

Se utilizó agar al 0,9% para obtener la solidificación del medio, y no se añadieron azúcares con objeto de reducir el riesgo de infecciones. El aporte hidrocarbonado se aseguraba con el resto de parénquima amilífero que iba subyacente a la yema, el cual permanecía sin infectarse debido a los antibióticos naturales existentes en el tubérculo (Mellitskii y Ozeretskovskaya 1968).

Se añadieron 13 ml. de medio a tubos de 180 mm de longitud y de 25 mm de diámetro, los cuales fueron cubiertos con tapones de aluminio Cap-o-test y esterilizados posteriormente en autoclave a 120°C durante 20 minutos.

Este medio fue utilizado tanto en la siembra de yemas aisladas como en la de injertos.



TABLA II .- Composición del medio para cultivo de yemas  
aisladas de palata.

PRODUCTO		CONCENTRACION g/l
Sales minerales (solución Heller)	Macroelementos	
	ClK	0,750
	NO <sub>3</sub> Na	0,600
	SO <sub>4</sub> Mg . 7H <sub>2</sub> O	0,250
	PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> Na . 11H <sub>2</sub> O	0,125
	Cl <sub>2</sub> Ca . 2H <sub>2</sub> O	0,075
	Microelementos	
	Cl <sub>3</sub> Fe . 6H <sub>2</sub> O	0,001
	SO <sub>4</sub> Zn . 7H <sub>2</sub> O	0,001
	BO <sub>3</sub> H <sub>3</sub>	0,001
	SO <sub>4</sub> Mn . H <sub>2</sub> O	0,001
	SO <sub>4</sub> Cu . 5H <sub>2</sub> O	0,001
	Cl <sub>3</sub> Al	0,001
	Cl <sub>2</sub> Ni . 6H <sub>2</sub> O	0,001
	IK	0,001
Agar		9,0

#### 2.3.1.2. Fitorreguladores utilizados

Con objeto de estudiar la influencia del ácido giberélico y de la cinetina sobre el desarrollo de las yemas testigo e irradiadas cultivadas "in vitro", se plantearon una serie de experiencias en las que se utilizó el ácido giberélico en la concentración de 10 p.p.m. en el medio nutritivo anteriormente descrito, y cinetina a la concentración de 5 p.p.m.

Debido a la labilidad de estos compuestos, no se agregaron al medio en el momento inicial para que no sufrieran los efectos de la elevada temperatura del autoclave, sino que se añadieron en condiciones asépticas cuando el agar de los tubos permanecía fundido a 60°C.

#### 2.3.2. Siembra de yemas aisladas

En la puesta a punto del cultivo de yemas, se siguió al principio el método tradicional de esterilización de las mismas mediante hipoclorito cálcico al 9% durante 45 minutos, seguido de sucesivos lavados con agua estéril (Gautheret 1959).

Tras numerosos intentos de cultivo por este método, se observó, en todos los casos, un número muy elevado de infecciones (superior al 80%). Pensando que al someter a los tejidos a los numerosos lavados que implica este método clásico de esterilización de yemas, se favorecía por un lado la difusión de los gérmenes contenidos en la piel del tubérculo, y a su vez

se eliminaban las defensas naturales propias de todos los órganos subterráneos de los vegetales, se pensó en cultivar las yemas sin ninguna manipulación excepto un ligero lavado superficial del tubérculo. Los resultados obtenidos por este método fueron plenamente satisfactorios en cuanto a la asepsia de los cultivos, ya que de esta manera desaparecieron casi por completo las infecciones.

Como consecuencia de estas observaciones, se adoptó la norma siguiente: trabajando en cámara de aire estéril (flujo laminar), se extraían las yemas del tubérculo por medio de un "sacabocados" de 18 mm de diámetro, obteniéndose un cilindro de parénquima con la yema en la superficie. Con ayuda de unas pinzas y un bisturí estériles, se cortaba el cilindro a una distancia de 18 mm por debajo de la yema y se depositaba en el interior del tubo sobre la superficie del agar, procurando que la base del corte contactara con el medio de cultivo pero no se hundiera. Una vez sembrados los tubos se cubrían con tapones cap-o-test y se colocaban en gradillas que se almacenaron en una cámara oscura a  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$ .

A lo largo del período de almacenamiento de las patatas (Diciembre-Mayo), se realizaron tres siembras de las yemas procedentes de los tubérculos irradiados en Diciembre, y dos, de los irradiados en Enero, sembrándose siempre 24 tubos por tratamiento.

### 2.3.3. Siembra de injertos

Con objeto de estudiar la influencia del parénquima irra-

diado sobre la brotación de la yema (efecto indirecto), se puso a punto una técnica de injertos de yemas sobre parénquimas procedentes de otros tubérculos.

Con un "sacabocados" de 18 mm de diámetro, se extraía un cilindro del tubérculo que iba a hacer de porta-injertos. Este cilindro se cortaba a 18 mm de altura y era taladrado centralmente con otro "sacabocados" de 5 mm de diámetro. Acto seguido, con el mismo taladro de 5 mm, se extraía una yema del tubérculo que iba a ser injertado. El cilindro extraído se cortaba a 21 mm de la yema y se introducía totalmente en el orificio practicado en el parénquima porta-injerto, quedando la yema injertada sobresaliendo 3 mm de la superficie como se puede observar en el esquema de la figura 16. Ambas piezas, ensambladas, se introducían en un tubo de ensayo, en condiciones asépticas análogas a las descritas en el apartado anterior.

Mediante esta técnica, se establecía un contacto lateral a lo largo de toda la superficie cilíndrica del injerto, que facilitaría la difusión de posibles sustancias inhibidoras o estimuladoras de la brotación, presentes en el portainjerto, hacia la yema. Además, como ambos cilindros contactaban con el agar, cualquier sustancia que se hubiera difundido a éste, procedente del portainjertos, podría ser absorbida por la zona basal del cilindro injertado y transportada hasta la yema para ejercer su efecto.

Los distintos tipos de injerto efectuados se detallan en la Tabla III en la que los números representan la dosis de irradiación recibida por los tubérculos.

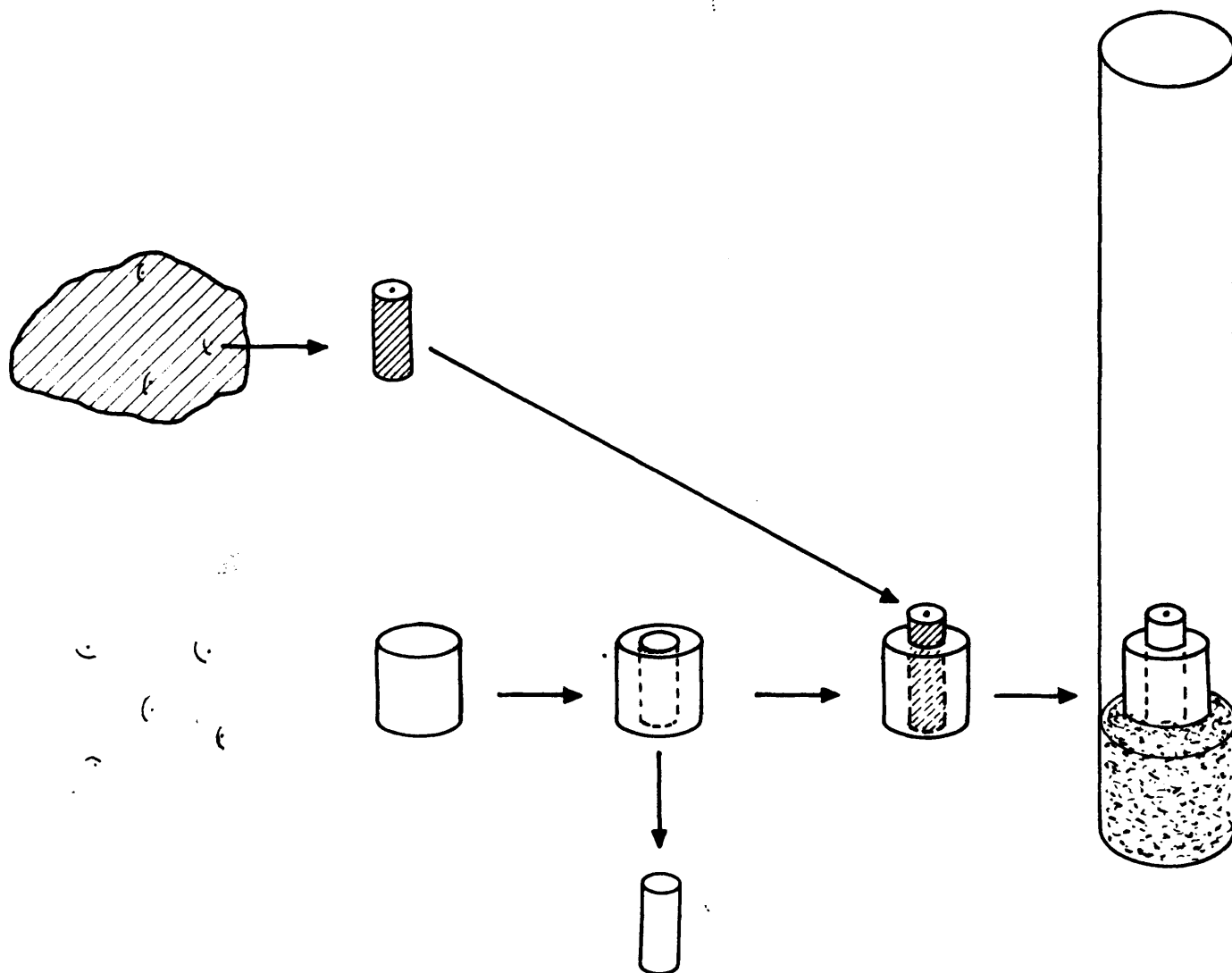


Fig. 16 A.- Esquema de la realización de un injerto

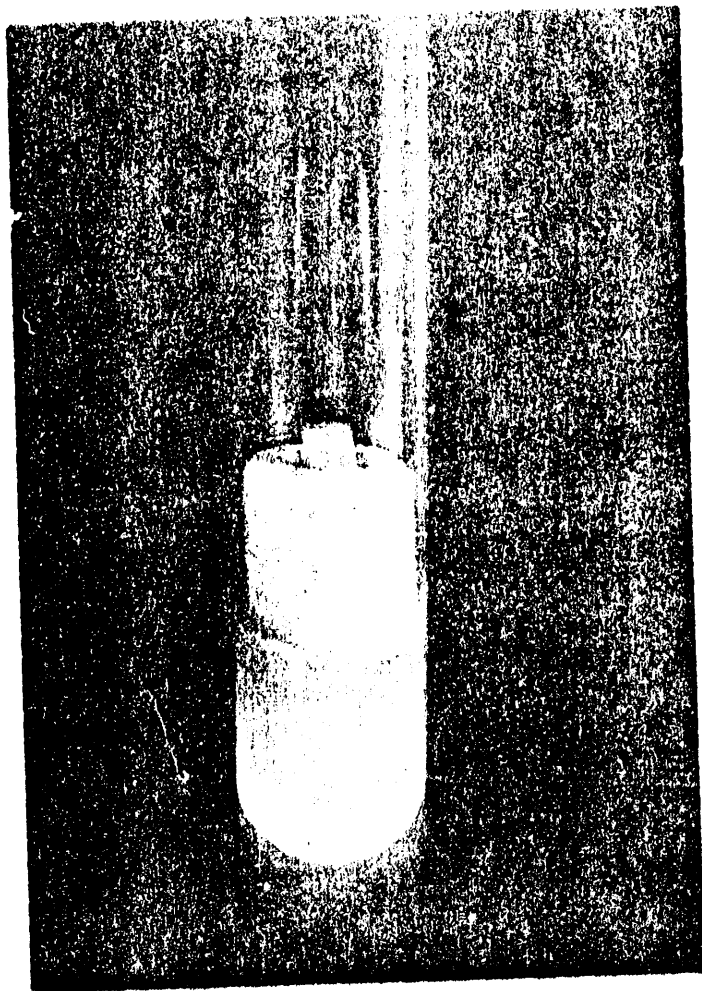


Fig. 16 B.- Detalle del injerto.

TABLA III .- Tipos de injerto realizados.

A		B		C	
Injerto (yema)	Portainjerto (parénquima)	Injerto (yema)	Portainjerto (parénquima)	Injerto (yema)	Portainjerto (parénquima)
0	0	0	3	3	0
3	3	0	6	6	0
6	6	0	9	9	0
9	9	0	12	12	0
12	12	-	-	-	-

En los de tipo A se estudió el efecto general del injerto sobre la brotación de las yemas.

El tipo B fué diseñado para estudiar el efecto del parénquima irradiado sobre las yemas no irradiadas, mientras que el tipo C se realizó para observar la influencia del parénquima testigo sobre las yemas irradiadas a las distintas dosis.

Los tubos, después de sembrados, se almacenaron en una cámara oscura a  $25^{\circ}\text{C} \pm 1$ .

#### 2.3.4. Evaluación del desarrollo

Semanalmente se observaron los tubos, anotando el número de brotes habidos por tubo, así como la longitud y configuración de los mismos.

## 2.4. TRATAMIENTOS EFECTUADOS PARA INHIBIR ARTIFICIALMENTE LA BROTACION DE LOS TUBERCULOS

### 2.4.1. Refrigeración

Los tubérculos tratados por refrigeración se mantuvieron en una cámara fría a  $3\pm 1$  y a un 80% de humedad relativa durante todo el tiempo que duró la experiencia.

### 2.4.2. Inhibidores químicos

#### 2.4.2.1. Hidrazida maleica

Se utilizó un preparado comercial que contenía una solución de hidrazida maleica al 30%.

El tratamiento se realizó pulverizando el producto disuelto en agua, a razón de 8 ml por litro, sobre las hojas de la planta dos semanas después de concluida la floración. La dosis empleada fué de 100 ml por m<sup>2</sup> de plantación.

#### 2.4.2.2. IPC - CIPC

Se utilizó un preparado comercial compuesto a base de una mezcla de IPC-CIPC en una concentración del 2,4%.



El tratamiento se realizó espolvoreando el producto sobre los tubérculos, a razón de 1,24 g por kg de peso fresco, equivalente a unos 30 mg de IPC-CIPC por kg de patatas.

Antes de efectuar el espolvoreo, se dejó transcurrir un período de tiempo suficiente (mes y medio) para que cicatrizaran las posibles heridas producidas en la piel del tubérculo durante su recolección, ya que el IPC y el CIPC inhiben la formación del "wound periderm". Los tubérculos tratados de esta forma, se guardaron en cajas de madera con aireación ("palets"), cuyas paredes, fondo y techo, habían sido también recubiertos con papel impregnado de la mezcla inhibidora.

#### 2.4.3. Radiación gamma

Los tubérculos sometidos a este tratamiento para su comparación con los sometidos a los tratamientos anteriores, se irradiaron a la dosis de 9 Krad en condiciones análogas a las descritas en el punto 2.1.2. La irradiación se realizó en época temprana, es decir, al poco tiempo de efectuada la recolección de los tubérculos.

### 3. RESULTADOS

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. EVOLUCION DE LAS YEMAS EN EL TUBERCULO

##### 3.1.1. Examen macroscópico

##### 3.1.1.1. Tubérculos testigo

En la Tabla IV se expresan los resultados de la brotación habida en los tubérculos testigo almacenados durante cinco meses (desde mediados de Diciembre hasta finales de Mayo).

##### 3.1.1.2. Irradiación temprana

En las tablas V y VI se expresan los resultados de la brotación habida en los tubérculos irradiados a mediados de Diciembre con dosis de 3 y 6 Krad respectivamente. Como la longitud total de los brotes de un tubérculo refleja la actividad vegetativa de éste, se ha calculado como "coeficiente de actividad vegetativa" (c.a.v.) el cociente entre la longitud total de los brotes de los tubérculos irradiados y la longitud total alcanzada por los brotes de los tubérculos testigo en el mismo momento,

multiplicando el resultado por cien.

$$\text{c.a.v.} = \frac{\text{longitud total de los brotes de los tubérculos irradiados}}{\text{longitud total de los brotes de los tubérculos testigo}} \times 100$$

En los tubérculos irradiados a 9 y 12 Krad. no se observó brotación alguna.

#### 3.1.1.3. Irradiación tardía

Los tubérculos que se irradiaron a mediados de Enero, hasta el momento de recibir este tratamiento, habían estado en las mismas condiciones de almacenamiento que los tubérculos testigo; por tanto, la evolución de la brotación en estos últimos puede servir de comparación con los irradiados tardíamente, correspondiendo el momento inicial de observación en éstos, a los 30 días de los sometidos a irradiación temprana. En las Tablas VII y VIII se expresan los resultados de la brotación habida en los tubérculos irradiados a mediados de Enero con dosis de 3 y 6 Krad. En los irradiados a 9 y 12 Krad no se observó brotación.

#### 3.1.1.4. Comparación de los resultados

##### 3.1.1.4.1. Resultados quincenales

En las figuras 17, 18 y 19 se compara la evolución de la brotación de los tubérculos irradiados en las dos épocas frente a los testigo.

##### 3.1.1.4.2. Resultados finales

En la Tabla IX se comparan los valores finales relativos a la brotación de los tubérculos testigo frente a los irradiados tanto temprana como tardíamente, y los valores relativos se representan esquemáticamente en la figura 20.

TABLA IV .- Evolución quincenal de la brotación de los tubérculos testigo.  
Observaciones realizadas sobre 50 tubérculos desde mediados de Diciembre hasta finales de Mayo. (c.v.= coeficiente de variabilidad)

		Días transcurridos desde la irradiación												
		0	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150		
Observaciones	temprana													
	tardía			0	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150
Brotación (%)		0	0	4	38	74	92	100	100	100	100	100	100	100
Brotos por tubérculo brotado.		-	-	1,5	1,2	1,3	3,3	4,5	4,9	5,4	5,7	5,7	5,7	5,7
valor medio		-	-	32,3	36,2	35,2	36,1	31,2	32,9	29,9	28,7	28,7	28,7	28,7
c.v. (%)		-	-	48,1	39,2	37,3	34,8	36,5	33,1	32,2	30,1	31,1	31,1	31,1
Longitud total de los brotes de un tubérculo		-	-	1,9	1,4	1,9	4,8	7,6	13,3	18,9	22,8	27,8	27,8	27,8
valor medio (cm)		-	-	48,1	39,2	37,3	34,8	36,5	33,1	32,2	30,1	31,1	31,1	31,1
c.v. (%)		-	-	6,0	45,6	96,2	303,6	450	490	540	570	570	570	570
Número total de brotes relativo a 100		-	-	7,6	53,2	140,6	441,6	760	1330	1890	2280	2720	2720	2720
Longitud total de los brotes relativa a 100		-	-	7,6	53,2	140,6	441,6	760	1330	1890	2280	2720	2720	2720

TABLA V .- Evolución quincenal de la brotación de los tubérculos irradiados en Diciembre a dosis de 3 Krad. Observaciones realizadas sobre 50 tubérculos. (c.v. coeficiente de variabilidad)

Observaciones	Días transcurridos desde la irradiación temprana										
	0	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150
Brotación (%)	0	0	0	12	22	28	44	48	52	58	60
Brotos por tubérculo brotado	-	-	-	1,5	2,2	3,9	3,2	4,3	4	3,6	3
valor medio	-	-	-	39,8	38,2	35,6	34,3	34,8	36,2	33,2	35
c.v.(%)	-	-	-								
Longitud total de los brotes de un tubérculo	-	-	-	1,6	2,4	5,8	6,5	9,1	9,9	10,2	11
valor medio (cm)	-	-	-	36,5	36,2	33,1	32,5	33,2	35,1	27,3	28
c.v.(%)	-	-	-								
Número total de brotes relativo a 100	-	-	-	18	48	109	141	206	208	209	216
Longitud total de los brotes relativa a 100 (cm)	-	-	-	19,2	53,4	162,4	286,0	436,8	514,8	591,6	672
Coeficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud total de los brotes testigo (%)	0	0	0	36,1	38,0	36,8	37,6	32,8	27,2	25,9	24

TABLA VI .- Evolución quincenal de la brotación de los tubérculos irradiados en Diciembre a dosis de 6 Krad. Observaciones realizadas sobre 50 tubérculos. (c.v. coeficiente de variabilidad)

Observaciones	Días transcurridos desde la irradiación temprana										
	0	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150
Brotación (%)	0	0	0	0	0	0	2	6	8	8	8
Brotos por tubérculo brotado	-	-	-	-	-	-	2,0	3,0	3,0	3,4	3,4
valor medio							0	42,5	45,1	43,2	43,2
c.v. (%)											
Longitud total de los brotes de un tubérculo	-	-	-	-	-	-	1,2	5,4	6,1	7,2	8,1
valor medio (cm)	-	-	-	-	-	-	36,2	40,5	38,2	36,1	37,3
c.v. (%)	-	-	-	-	-	-	4	18	24	27	27
Número total de brotes relativo a 100	-	-	-	-	-	-	2,4	32,4	48,8	57,6	64,8
Longitud total de los brotes relativa a 100 (cm)	-	-	-	-	-	-					
Coeficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud total de los brotes testigo (%)	0	0	0	0	0	0	0,3	2,4	2,6	2,5	2,5



TABLA VII .- Evolución quincenal de los tubérculos irradiados en Enero a dosis de 3 Krad. Observaciones realizadas sobre 50 tubérculos. (c.v. coeficiente de variabilidad)

Observaciones	Días transcurridos desde la irradiación tardía									
	0	15	30	45	60	75	90	105	120	
Brotación (%)	0	4	14	22	42	60	66	68	68	
Brotos por tubérculo brotado	-	1	1,1	3,1	2,3	2,7	3,3	3,3	3,4	
valor medio	-	0	14,8	22,1	26,5	27,3	26,2	27,1	28,0	
c.v. (%)										
Longitud total de los brotes de un tubérculo	-	0,5	0,5	3	3,1	4,4	7,2	9,5	10,1	
valor medio (cm)	-	0	18,2	20,1	25,3	28,2	27,3	28,1	26,5	
c.v.	-	4	15	68	97	162	218	224	231	
Número total de brotes relativo a 100	-	2,0	7,0	66,0	130,2	264	475,2	646	686,8	
Longitud total de los brotes relativo a 100 (cm)										
Coeficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud total de los brotes testigo (%)	0	3,7	5,0	14,9	17,1	19,8	25,1	28,3	25,2	

TABLA VIII .- Evolución quincenal de los tubérculos irradiados en Enero a dosis de 6 Krad. Observaciones realizadas sobre 50 tubérculos. (c.v. coeficiente de variabilidad)

Observaciones	Días transcurridos desde la irradiación tardía									
	0	15	30	45	60	75	90	105	120	
Brotación (%)	0	2	4	12	36	42	48	48	50	
Brotes por tubérculo brotado	-	1	1,5	1,5	2,1	2,3	2,7	2,9	2,9	
valor medio	-	-	33,3	35,2	28,3	26,5	25,2	27,3	26,3	
c.v. (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Longitud total de los brotes de un tubérculo	-	0,8	0,7	1	3	4,7	5,7	7,2	8,0	
valor medio (cm)	-	-	35,3	38,0	37,0	36,2	35,3	32,5	30,1	
c.v. (%)	-	2	6	18	76	97	130	139	145	
Número total de brotes relativo a 100	-	1,6	2,8	12,0	108,0	197,4	273,6	345,6	400	
Longitud total de los brotes relativa a 100 (cm)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Coeficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud total de los brotes testigo (%)	0	3,0	2,0	2,0	14,2	14,8	14,5	15,1	14,7	

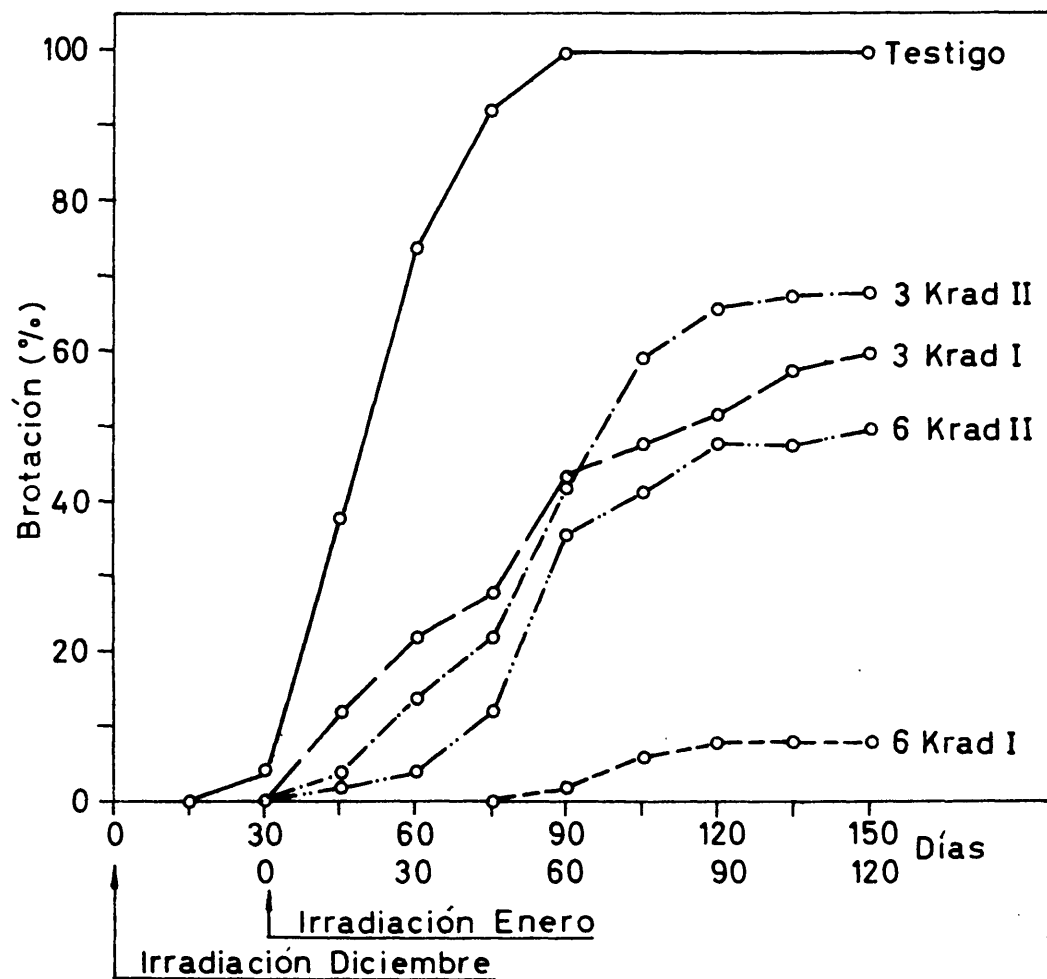


Fig. 17.- Brotación de los tubérculos testigo e irradiados, a lo largo del tiempo de almacenamiento. I: irradiación Diciembre, II: irradiación Enero.

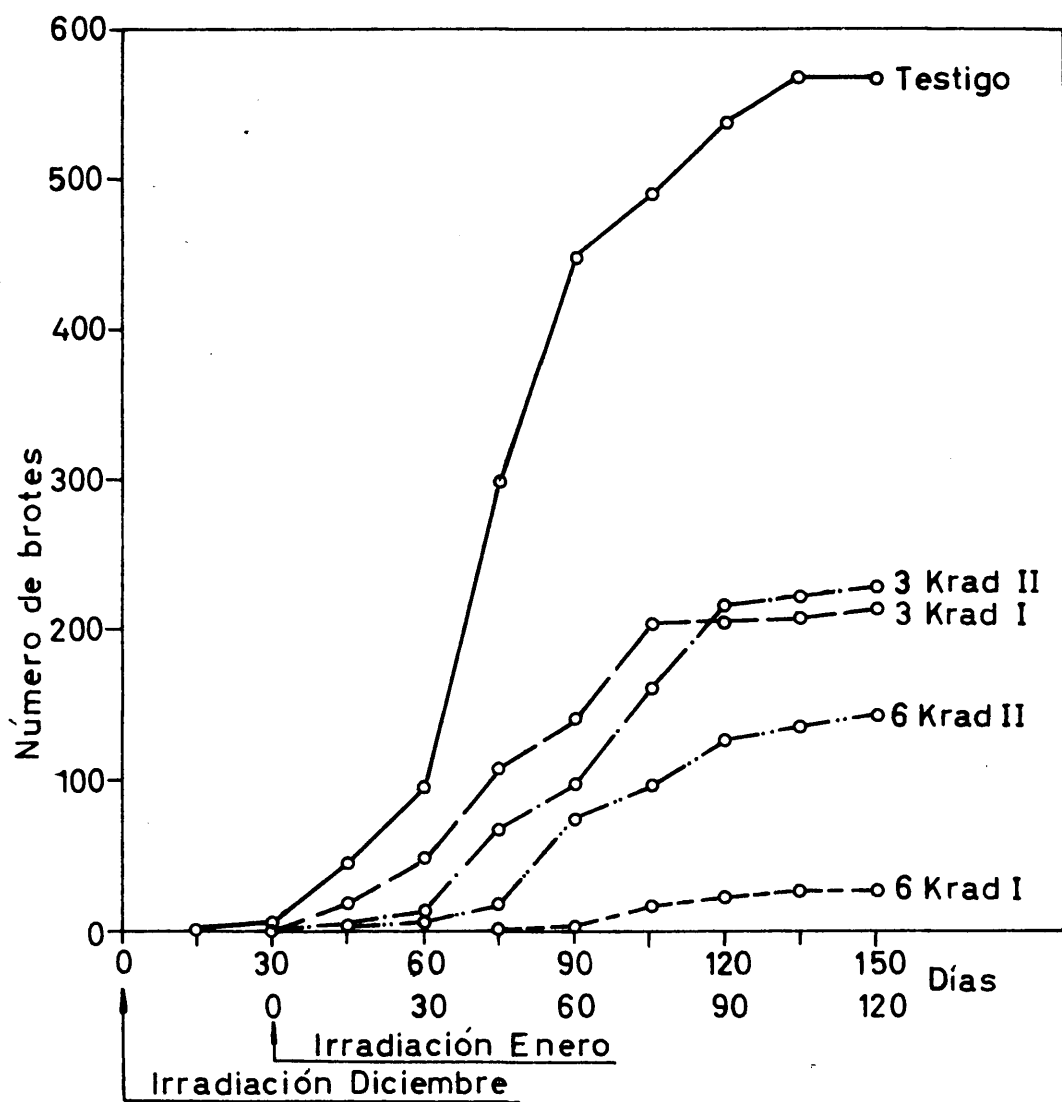


Fig. 18.- Evolución del número total de brotes relativo a 100 tubérculos, en función del tiempo. I: irradiación Diciembre; II: irradiación Enero.

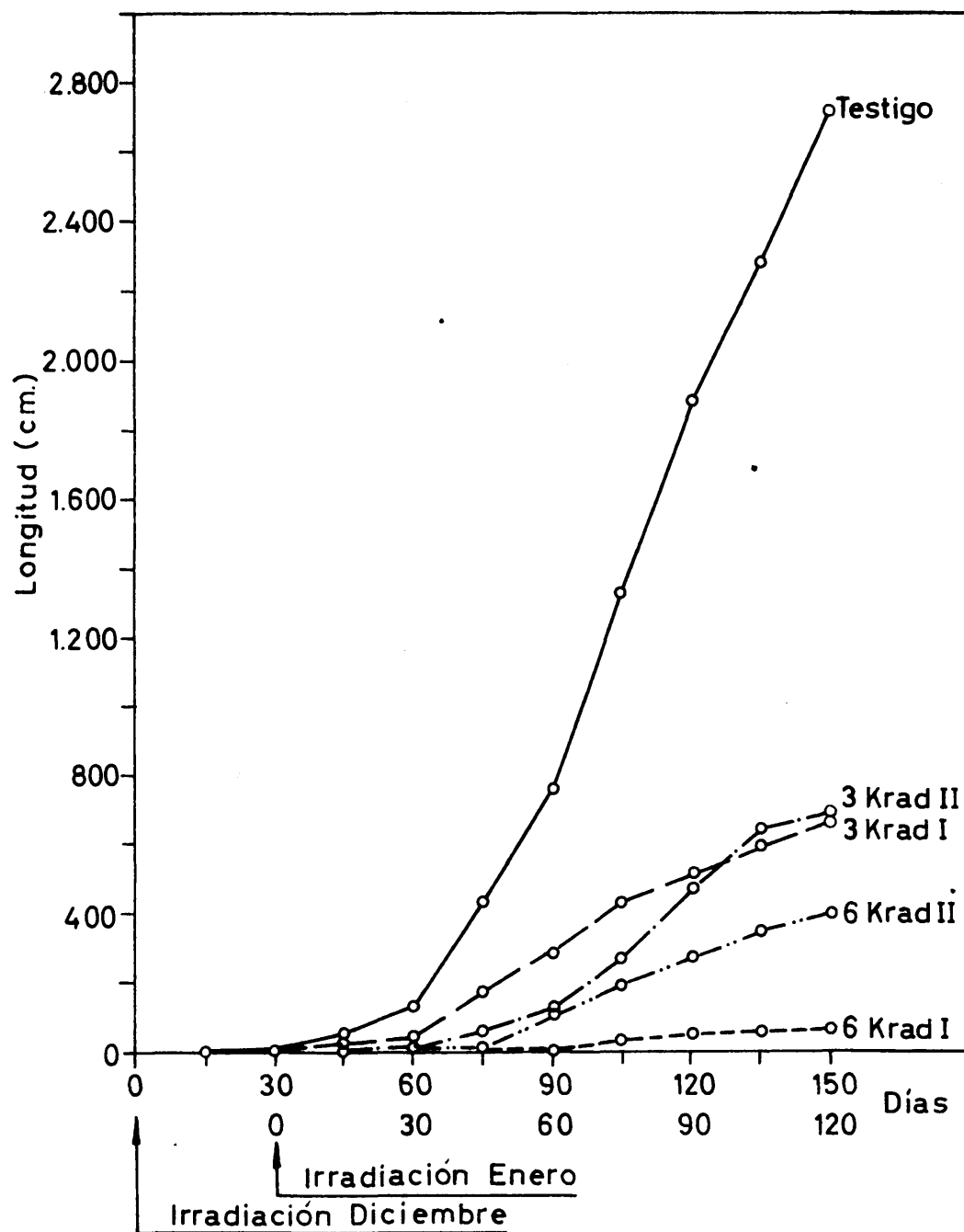


Fig. 19.- Evolución de la longitud total de los brotes, relativa a 100 tubérculos, en función del tiempo. I irradiación Diciembre; II irradiación Enero.

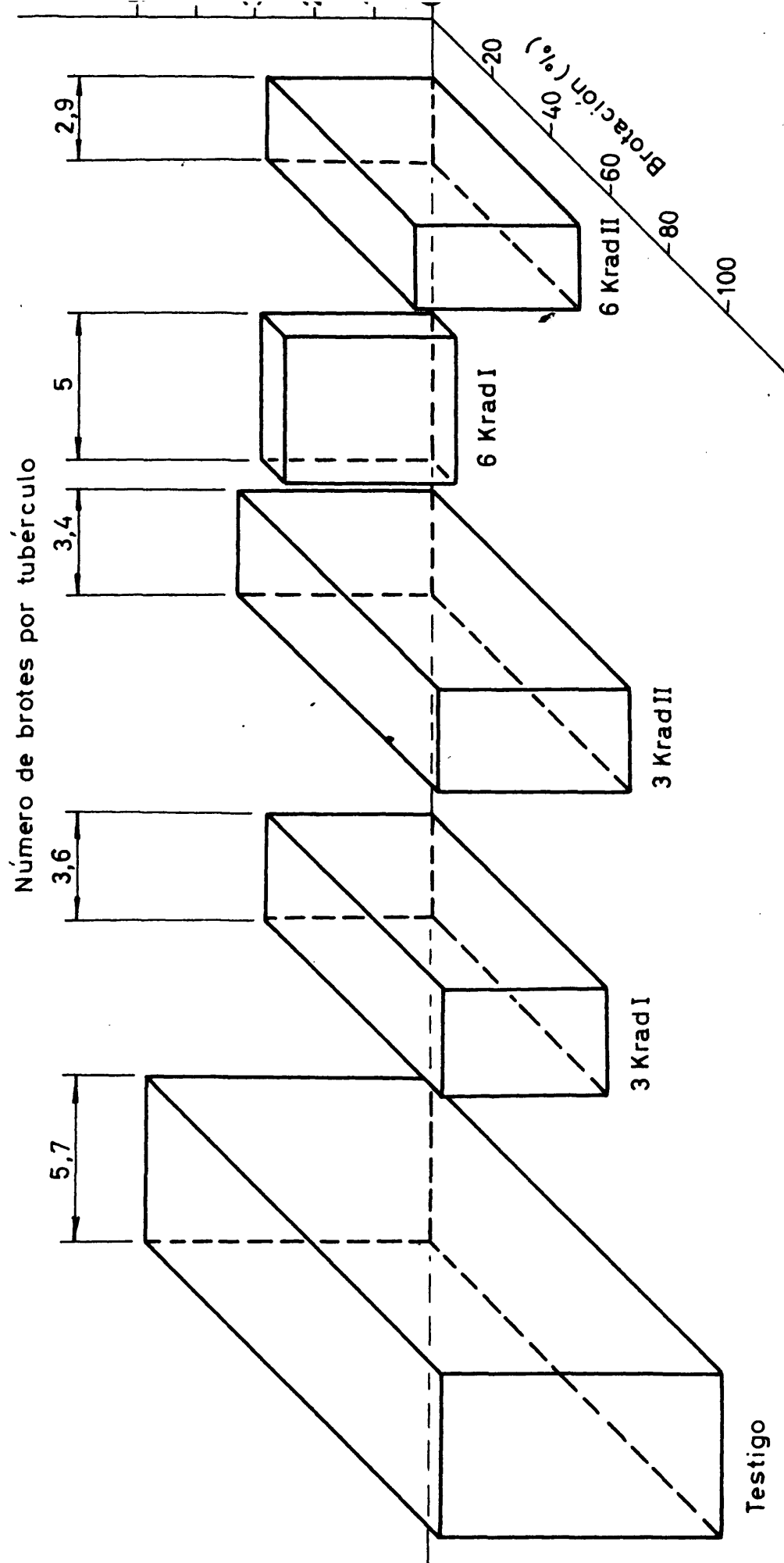


Fig. 20.- Diagrama comparativo de los valores finales relativos a la brotación de los tubérculos testigo frente a los irradiados temprana y tardíamente. I irradiación Diciembre; II irradiación Enero.

### 3.1.2. Estudio histológico

#### 3.1.2.1. Yemas procedentes de tubérculos testigo (Evolución normal).

La evolución normal de una yema en un tubérculo depende, como es lógico, de su localización. En general son las apicales las que se desarrollan, quedando las laterales inhibidas pero con potencialidad para hacerlo.

En el esquema de la figura 21 se representa la evolución normal de una yema testigo y se fijan tres tipos de estados (A, B y C) que definen tres momentos del desarrollo.

El tipo A corresponde a una yema recién formada con escaso número de primordios foliares (de 2 a 4) y se da en las yemas apicales existentes en los tubérculos recién formados o en las axilares no desarrolladas de los tubérculos almacenados. En estas yemas se observa la túnica, el corpus y los primordios foliares muy poco desarrollados con un gran número de células pequeñas y estrechamente compactadas. Estas zonas se muestran fuertemente teñidas debido a la presencia de numerosos núcleos y a la falta de vacuolización de sus células. El procámbium está muy poco desarrollado (fig. 22).

El tipo B corresponde a una yema un poco más desarrollada que el tipo anterior, con un número mayor de primordios foliares (4 a 8). Estas yemas corresponden a las apicales de los tubérculos en estado durmiente al

poco tiempo de la recolección. También se observaron yemas en este estado de desarrollo entre algunas axilares existentes al final del período de reposo del tubérculo. En estas yemas se observa la túnica y el corpus claramente diferenciados, con núcleos densamente teñidos, apareciendo los primordios foliares muy definidos y alargados sobre todo los más antiguos. El procámbium, también con núcleos muy aparentes, se muestra en forma de dos cordones laterales fuertemente teñidos que corresponden a la sección longitudinal de la superficie tronco-cónica ocupada por este meristemo. En la parte interior de esta superficie, van quedando alojadas las células de la médula, que aparecen tanto más diferenciadas cuanto más distantes se encuentran de la cara interna del corpus. En los primordios foliares se observa también, claramente diferenciado, el procámbium (que se comunica con la superficie tronco-cónica anteriormente citada) bordeado exteriormente por células menos densamente teñidas debido a un inicio de vacuolización (fig. 23).

El tipo C corresponde a una yema en la fase inicial del desarrollo. Los caracteres esbozados en el tipo B aparecen aquí más definidos y la estructura se muestra como la típica de un brote de dicotiledónea. Los primordios foliares en número variable (en general superior a 8) están perfectamente formados, sobre todo los más antiguos, que se encuentran claramente individualizados y apartados de la zona apical. La túnica y el corpus, localizados en el extremo superior del brote, forman un conjunto de células apretadas y con núcleos densamente teñidos,



conectando con el procámbium y limitando la parte superior de la médula. Tanto en las células de la túnica como en las del corpus, procámbium y superiores de la médula, no aparecen signos de vacuolización (fig. 24).

En un estado posterior, los caracteres del tipo C se exaltan y se produce, como consecuencia, la brotación de la yema (fig. 25).

#### 3.1.2.2. Yemas procedentes de tubérculos irradiados

En las observaciones realizadas en las preparaciones de las yemas procedentes de tubérculos irradiados, se tuvieron en cuenta una serie de características que indicaban el efecto de la radiación sobre la división, diferenciación o degeneración celular.

Las observaciones que se fueron realizando a lo largo del período de almacenamiento se han concretado en dos épocas, correspondientes a los dos y a los cuatro meses de la finalización del período normal de reposo en los tubérculos testigo y se detallan en las tablas X y XI. A continuación se describen los efectos observados como consecuencia de las diferentes dosis de irradiación sobre las yemas, según el estado de desarrollo que tuvieran en el momento de ser irradiadas.

#### 3.1.2.2.1. Yemas irradiadas en estado inicial de formación (tipo A)

En la figura 26 se representa un esquema del efecto de las diferentes dosis de irradiación sobre este tipo de yemas.

##### -Dosis de irradiación: 3 Krad.

En las observaciones realizadas sobre yemas inhibidas tanto a los dos como a los cuatro meses de finalizado el período de reposo, se vió que la capa interna de la túnica estaba destruída. No se observaron mitosis, pero tanto el corpus como el procámbium aparecieron sin dañar ofreciendo una coloración y apariencia análoga a la observada en las yemas testigo.

##### -Dosis de irradiación: 6 Krad.

Las yemas que recibieron esta dosis, mostraron efectos análogos a las que recibieron 3 Krad con la excepción de que en este caso la túnica se destruyó completamente tanto a los dos como a los cuatro meses de finalizado el período de reposo, y el ápice ofreció un aspecto de cúpula aplanada. A los cuatro meses, se observó, además, vacuolización en las células de la médula y de los primordios foliares (fig. 27).

##### -Dosis de irradiación: 9 y 12 Krad.

Ambos tipos de dosis produjeron los mismos

efectos sobre las yemas, si bien en el tiempo se manifestaron más ostensiblemente en las de 12 Krad que en las de 9. Además de la destrucción de la túnica, a los dos meses de finalizado el reposo, se observó una vacuolización precoz en las células de la médula y de los primordios foliares, y a los cuatro meses, degeneración en los núcleos de las células de estos mismos tejidos (fig. 28).

#### 3.1.2.2.2. Yemas irradiadas en estado medio de formación (tipo B)

En la figura 29 se representa un esquema de los efectos de las diferentes dosis de irradiación sobre este tipo de yemas.

##### -Dosis de irradiación: 3 Krad.

En las observaciones realizadas a los dos meses de finalizado el período de reposo del tubérculo, sobre yemas inhibidas, se vió destrucción de la túnica, vacuolización precoz de la médula y primordios foliares y degeneración de núcleos medulares, observándose a los cuatro meses, además de los anteriores efectos, que se agudizaron, la degeneración de los núcleos en las células de los primordios foliares.

##### -Dosis de irradiación: 6 Krad.

Las yemas que recibieron esta dosis, mostraron efectos análogos a las que recibieron 3 Krad, observán-

dose además un inicio en la vacuolización del corpus, que se hizo más patente a medida que transcurrió el tiempo. La vacuolización comenzó por la zona central del corpus y se extendió a las laterales. (fig. 30).

-Dosis de irradiación: 9 y 12 Krad.

En ambos tipos de dosis, se vió en las primeras observaciones, además de los efectos mencionados para 6 Krad, destrucción de los núcleos del corpus y posteriormente vacuolización del cámbium apical con picnosis de sus núcleos, llegándose a la destrucción total del ápice (fig. 31).

3.1.2.2.3. Yemas irradiadas en estado de inicio del desarrollo  
(tipo C)

En la figura 32 se representa un esquema de los efectos de las diferentes dosis de irradiación sobre este tipo de yemas.

-Dosis de irradiación: 3 y 6 Krad.

En las observaciones realizadas sobre yemas inhibidas que habían recibido ambos tipos de tratamiento, se vieron efectos análogos: destrucción de túnica; vacuolización precoz en las células de la médula y primordios, seguida de picnosis de sus núcleos, así como vacuolización del corpus. Estos efectos que ya se no-

taron a los dos meses de finalizado el período de reposo del tubérculo, se agudizaron a los cuatro meses llegándose hasta la destrucción parcial del ápice, que fué más intensa en la dosis de 6 Krad. (fig. 33).

-Dosis de irradiación: 9 y 12 Krad.

En ambos tipos de tratamiento se observó, ya a los dos meses de finalizado el reposo de los tubérculos, la destrucción y desorganización total del ápice (fig.34).

**TABLA .- servaciones realiza a os os meses de finalizaci n**

[illegible]

TABLA XI .- Observaciones realizadas a los cuatro meses de finalización del reposo de los tubérculos, sobre yemas irradiadas en distinto estado (A,B,C) a diferentes dosis

OBSERVACIONES	Tipo A				Tipo B				Tipo C			
	3	6	9	12	3	6	9	12	3	6	9	12
Inhibición de mitosis	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Destrucción de la capa interna de la túnica	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Destrucción de la capa externa de la túnica		x	x	x		x	x	x		x	x	x
Vacuolización precoz de la médula		x	x	x		x	x	x		x	x	x
Vacuolización precoz de los primordios foliares		x	x	x		x	x	x		x	x	x
Degeneración de núcleos medulares			x	x		x	x	x		x	x	x
Degeneración de núcleos de los primordios foliares			x	x		x	x	x		x	x	x
Vacuolización del corpus				x		x	x	x		x	x	x
Degeneración de núcleos del corpus							x	x		x	x	x
Vacuolización del cambium apical							x	x		x	x	x
Degeneración de núcleos del cambium apical								x		x	x	x
Destrucción parcial del ápice de la yema								x		x	x	x
Destrucción total del ápice de la yema								x		x	x	x

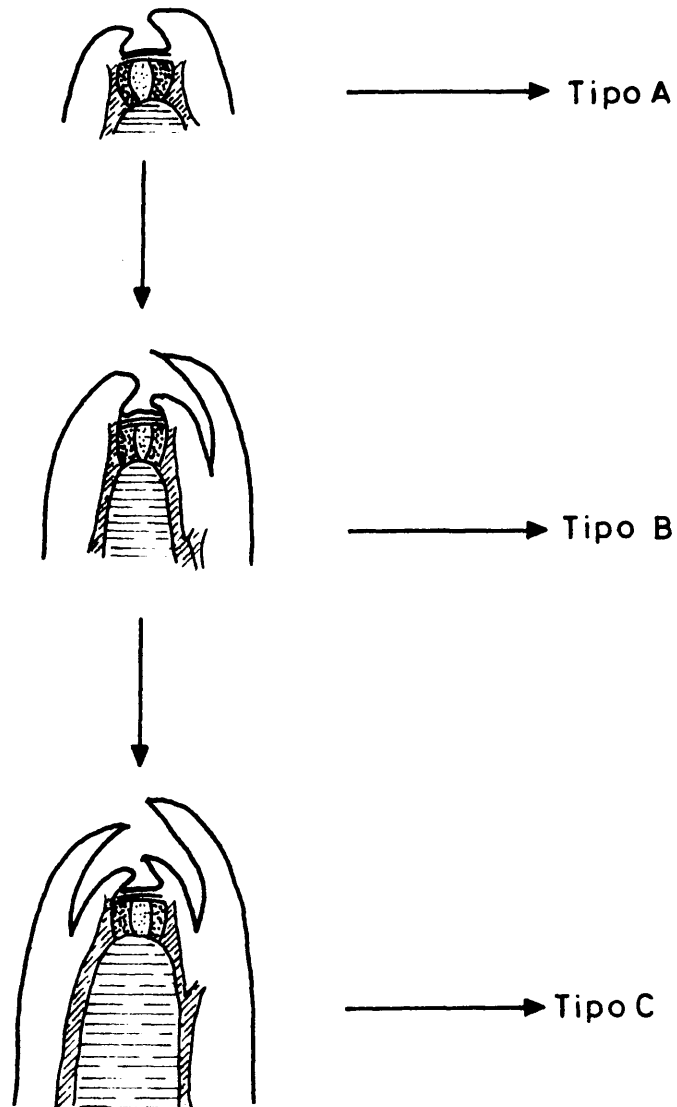


Fig. 21.- Esquema de la evolución normal de una yema testigo.



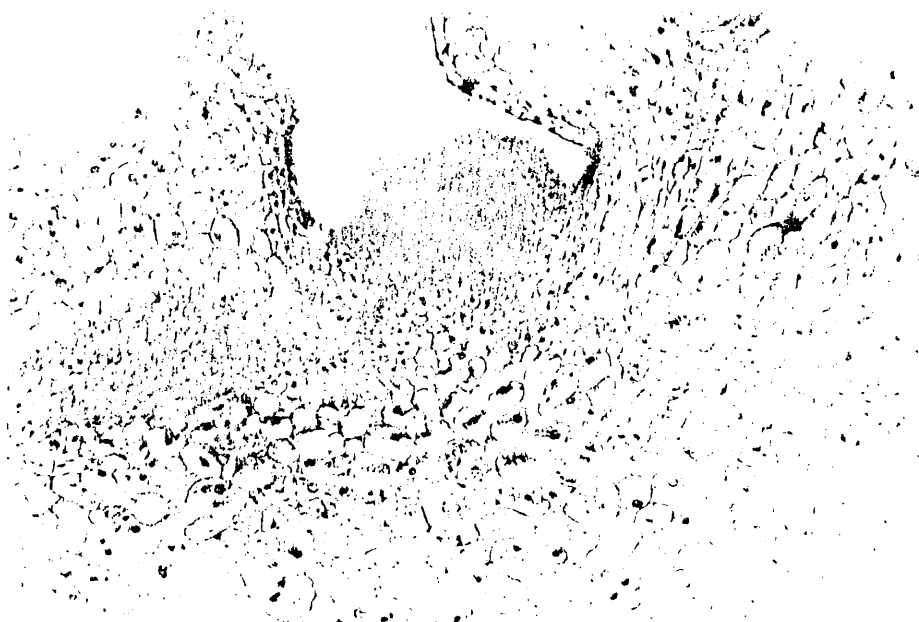


Fig. 22.- Yema testigo (tipo A)



Fig. 23.- Yema testigo (tipo B)



Fig. 24.- Yema testigo (tipo C)



Fig. 25.- Yema en pleno desarrollo

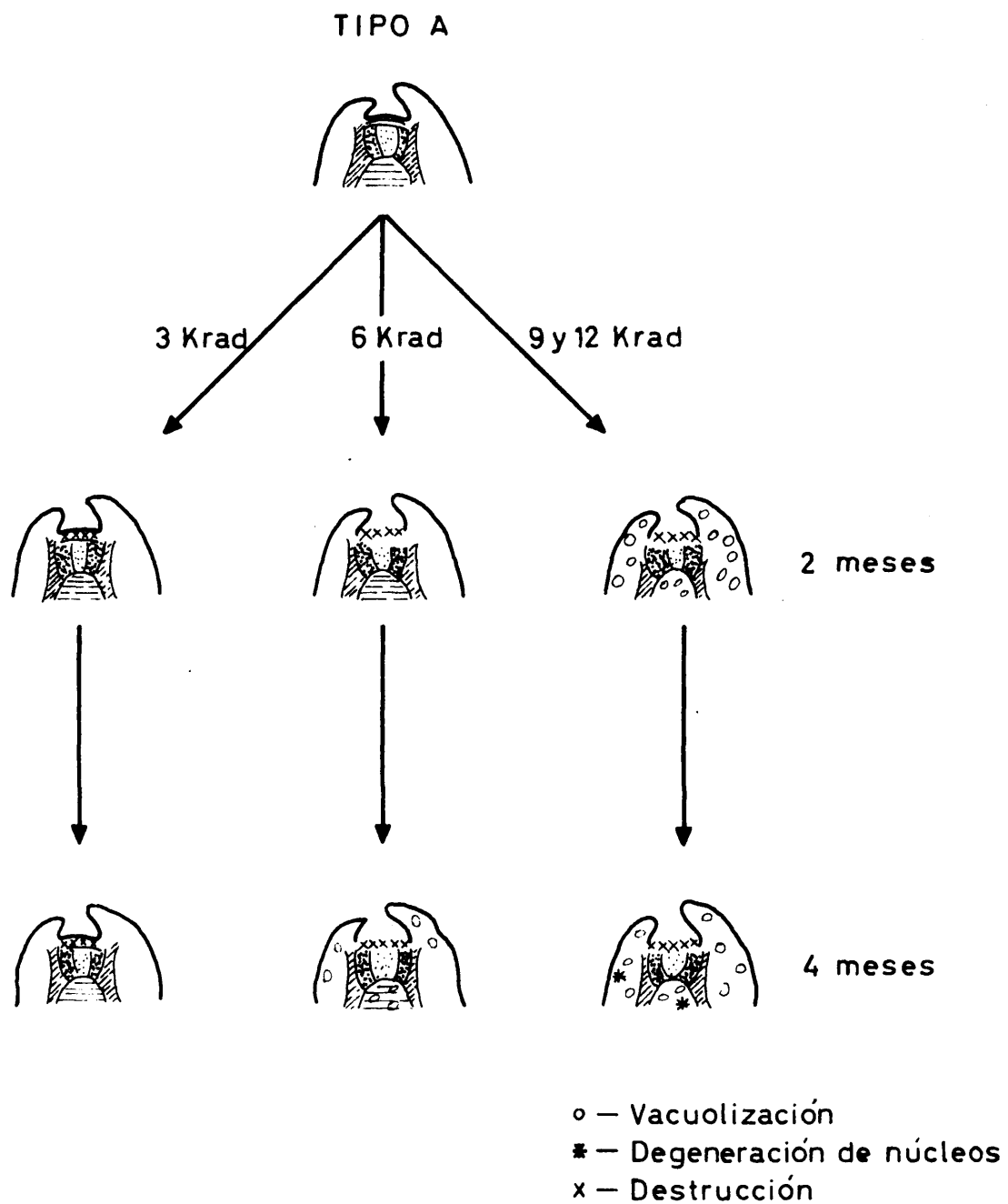


Fig. 26.- Esquema del efecto de las distintas dosis de irradiación sobre yemas de tipo A.



Fig. 27.- Estado de una yema de tipo A cuatro meses después de la irradiación (dosis: 6 Krad)

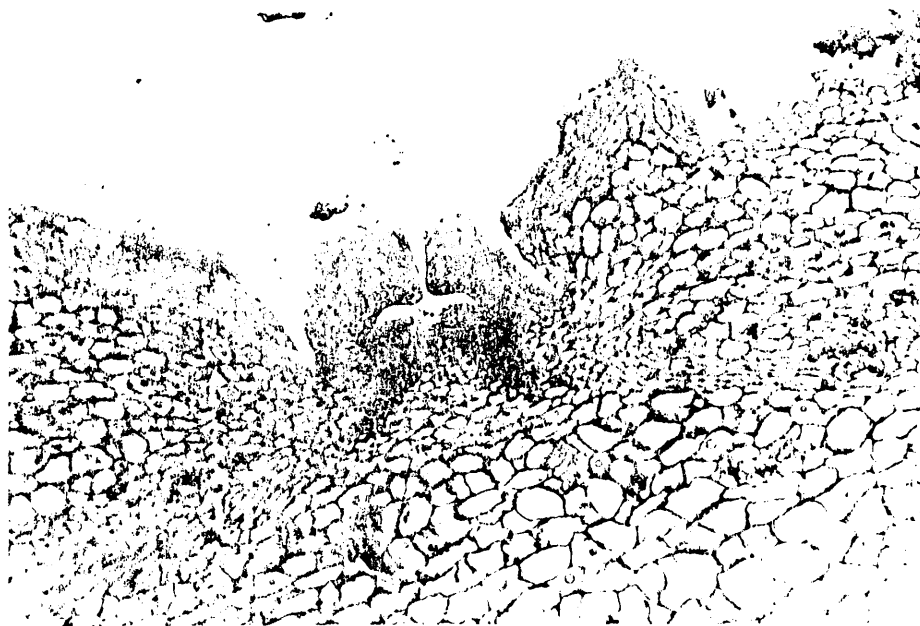


Fig. 28.- Estado de una yema de tipo A cuatro meses después de la irradiación (dosis: 9 Krad)

# TIPO B

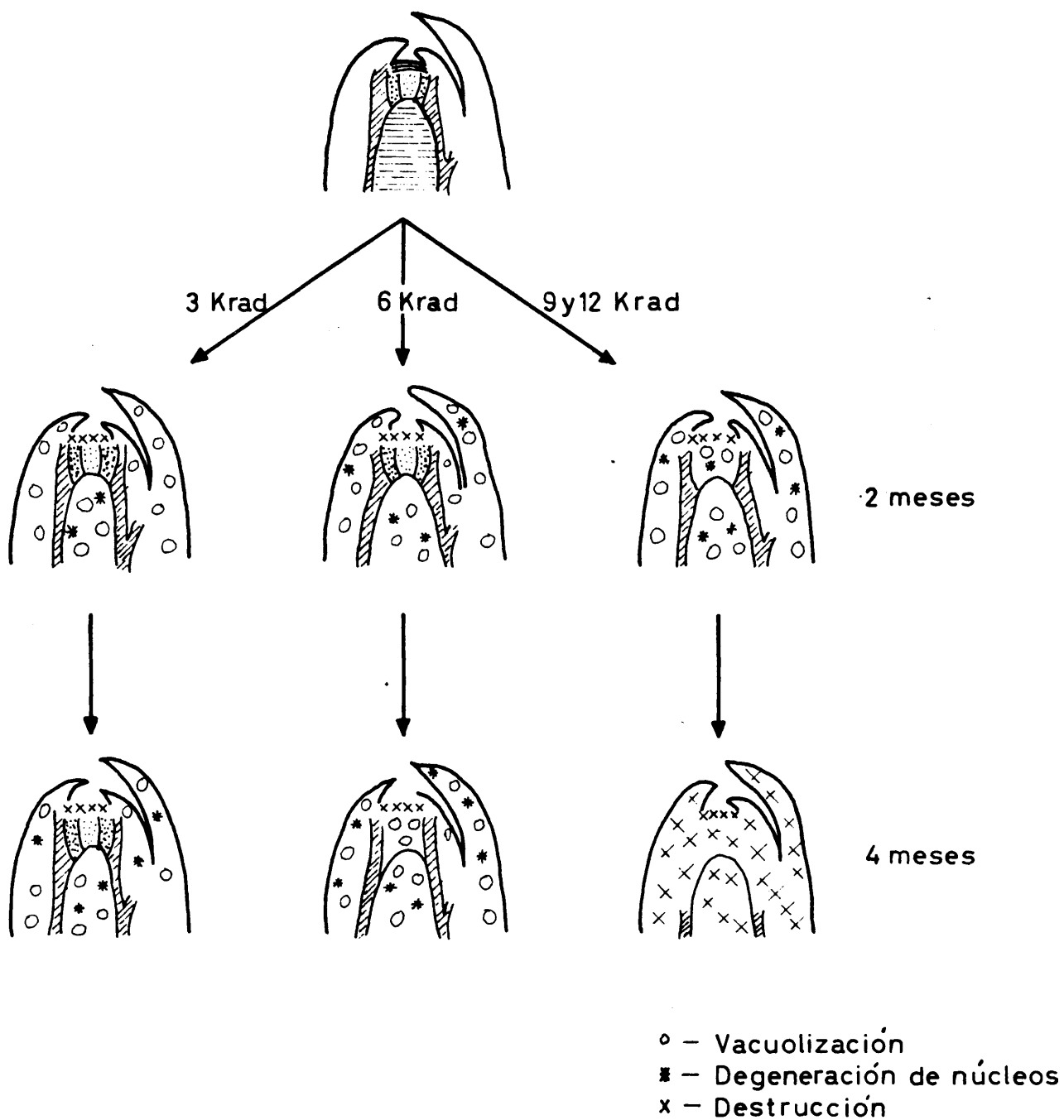


Fig. 29.- Esquema del efecto de las distintas dosis de irradiación sobre yemas de tipo B.



Fig. 30.- Estado de una yema de tipo B cuatro meses después de la irradiación (dosis: 6 Krads)



Fig. 31.- Estado de una yema de tipo B cuatro meses después de la irradiación (dosis: 9 Krads)

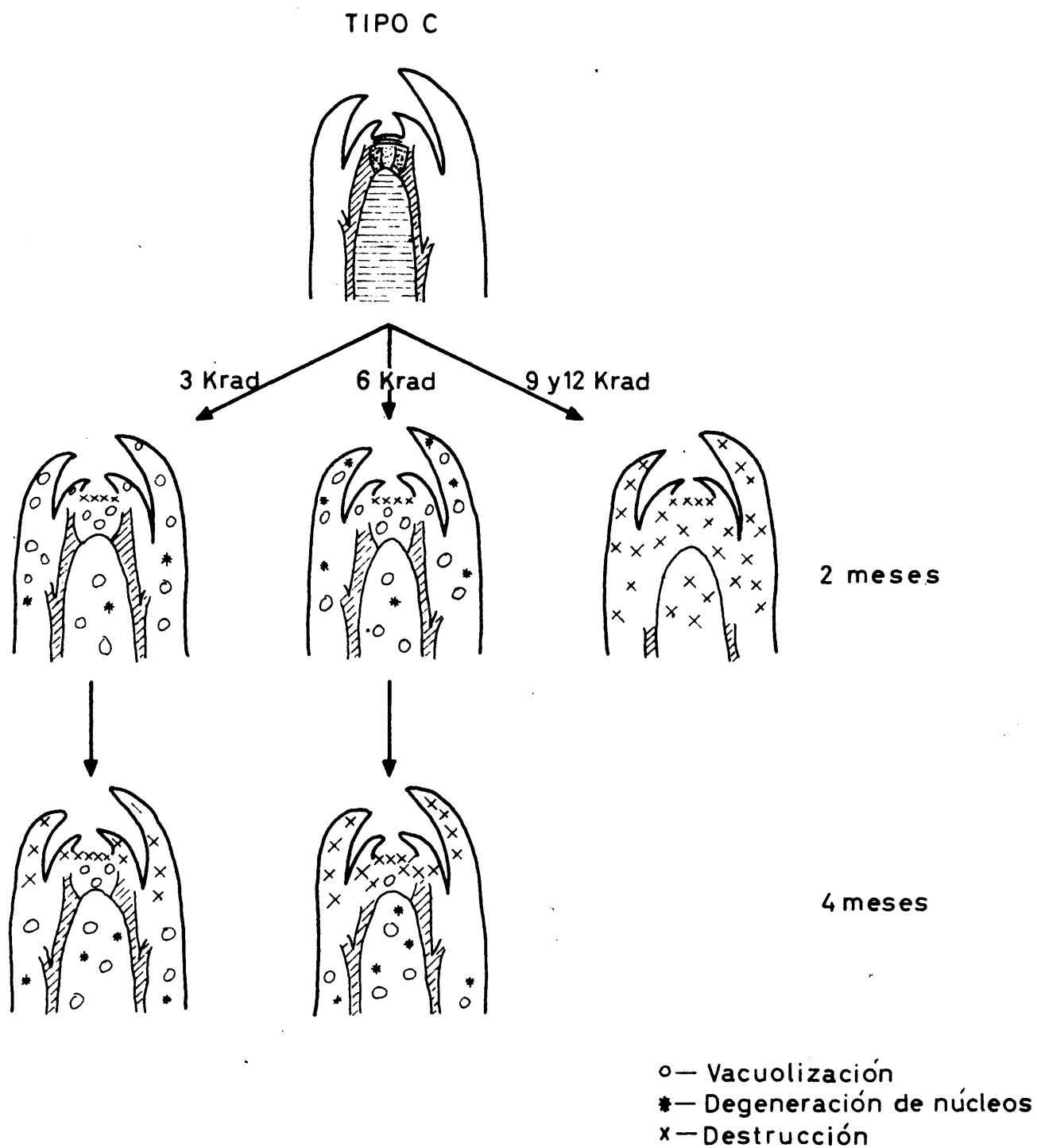


Fig. 32.- Esquema del efecto de las distintas dosis de irradiación sobre yemas de tipo C.

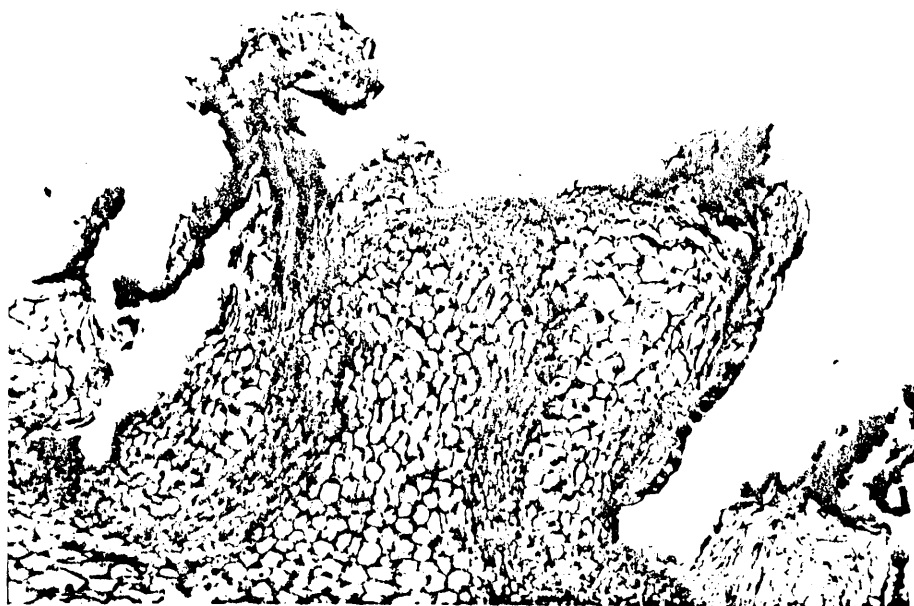


Fig. 33.- Estado de una yema de tipo C cuatro meses después de la irradiación (dosis: 3 Krad)

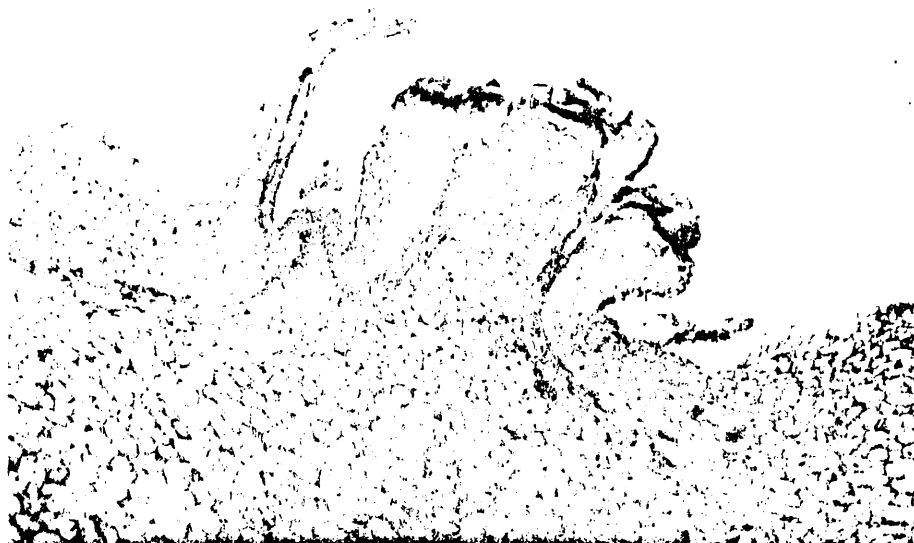


Fig. 34.- Estado de una yema de tipo C dos meses después de la irradiación (dosis: 9 Krad)



### 3.2. EVOLUCION DE LAS YEMAS AISLADAS CULTIVADAS IN VITRO SOBRE MEDIO NUTRITIVO

#### 3.2.1. Desarrollo de yemas no irradiadas

##### 3.2.1.1. Medio sin fitohormonas

A lo largo del período de almacenamiento de los tubérculos se realizaron tres siembras de yemas a principios de los meses de Enero, Febrero y Marzo respectivamente. En Enero los tubérculos no habían comenzado a brotar y se tomaron yemas apicales de la corona. En Febrero había algunos tubérculos con indicios de brotación pero las siembras se realizaron con yemas procedentes de aquellos que todavía no habían brotado. En Marzo todos los tubérculos estaban brotados y para realizar la siembra se tomaron las yemas de la corona que permanecían aún sin hacerlo.

En cada siembra se llevó un control semanal de la brotación que se refleja en la Tabla XII.

El desarrollo de estas yemas fué más rápido en la siembra de Marzo que en las restantes, aunque todos los brotes presentaron una forma análoga a la que se representa en la figura 35.

##### 3.2.1.2. Medio con Acido Giberélico y con Cinetina

Para estudiar el efecto de estas fitohormonas sobre la brotación de las yemas de papa se compararon los resul-

TABLA XII .- Evolución semanal de la brotación de las yemas testigo sembradas en tres épocas diferentes. Observaciones realizadas en medio Heller sin fitohormonas sobre 24 tubos por siembra. (c.v. coeficiente de variabilidad)

OBSERVACIONES	Mes de Enero				Mes de Febrero				Mes de Marzo		
	7	14	21	28	7	14	21	28	7	14	21
Brotación (%)	91,7	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Brotes por yema brotada											
valor medio	1,0	1,2	1,2	1,3	1,0	1,2	1,3	1,5	1,1	1,3	1,5
c.v. (%)	0	26,2	28,3	32,1	0	26,7	26,3	25,2	28,7	27,1	29,3
Longitud total de los brotes de una yema											
valor medio (cm)	0,8	0,9	1,6	2,3	1,0	1,1	1,6	2,5	2,0	3,1	5,4
c.v. (%)	27,2	26,3	29,1	29,8	32,5	30,3	29,2	27,3	27,2	27,9	27,6
Número total de brotes relativo a 100											
valor medio	91,7	120	120	130	100	120	130	150	110	130	150
Longitud total de los brotes relativa a 100 (cm)											
valor medio	73,4	90	160	230	100	110	160	250	200	310	540

tados de brotación de las sembradas en medio Heller con otras sembradas en medio Heller suplementado con ácido giberélico (10 p.p.m.) o con cinetina (5 p.p.m.).

En la Tabla XIII se observan los resultados comparativos de la brotación de 24 tubos a los 28 días de la siembra.

Como observación general se puede decir que las yemas tratadas con ácido giberélico produjeron tallos más largos y más numerosos que las testigo (fig. 36). Los tratados con cinetina produjeron un ligero incremento en el número de tallos, pero éstos resultaron más cortos y engrosados que los testigo (fig. 37).

TABLA XIII .- Desarrollo de las yemas no irradiadas, en medio Heller con ácido giberélico y con cinetina. Resultados obtenidos sobre 24 tubos a los 28 días de la siembra.

OBSERVACIONES	Blanco	AG (10 p.p.m.)	Cin (5 p.p.m.)
Brotación (%)	100	100	100
Brotes por yema brotada			
valor medio	1,5	5,7	2,2
c.v. (%)	28,5	30,2	26,5
Longitud total de los brotes de una yema			
valor medio (cm)	2,5	11,5	2,5
c.v. (%)	31,1	26,3	35,0
Número total de brotes relativo a 100	150	570	220
Longitud total de los brotes relativa a 100 (cm)	250	1150	250

### 3.2.2. Desarrollo de yemas irradiadas

#### 3.2.2.1. Irradiación temprana

En la figura 38 se representa el esquema de los tipos morfológicos en el desarrollo de las yemas en los diferentes tratamientos.

##### 3.2.2.1.1. En solución nutritiva sin fitohormonas

El desarrollo de las yemas irradiadas cultivadas en solución nutritiva se evaluó semanalmente durante un mes en tres épocas de siembra (Enero, Febrero y Marzo). Los resultados de las observaciones para 3 y 6 Krad vienen representados en las Tablas XIV y XV. A diferencia de lo observado en las yemas testigo, la brotación se redujo considerablemente. En un principio se desarrollaron los primordios foliares solamente dando a la yema el aspecto de una roseta (fig. 39). En algunas ocasiones, en las yemas de 3 Krad se originaron, del centro de la roseta, uno o varios tallos, pero en la mayoría de los casos éstos no aparecieron quedando solamente la roseta inicial. En las de 6 Krad no se desarrollaron tallos durante las siembras de Enero y Febrero y únicamente en Marzo aparecieron algunos pero en pequeña proporción. En las yemas irradiadas con 9 y 12 Krad no se observó ningún tipo de desarrollo ni siquiera de los primordios (fig. 40).

### 3.2.2.1.2. Solución nutritiva con fitohormonas

El empleo del ácido giberélico y de la cinetina en interacción con las yemas irradiadas, produjo una amplificación de los efectos producidos por la irradiación que quedaron patentes al comparar las yemas irradiadas y tratadas con fitohormonas con las testigo igualmente tratadas. En la Tabla XVI se detallan los resultados de la brotación de las yemas irradiadas con 3 y 6 Krad.

En general se observó menor estímulo en las de 6 Krad que en las de 3. El ácido giberélico favoreció el desarrollo de primordios filiformes, mientras que la cinetina dió origen a rosetas con primordios engrosados (figs. 41 y 42).

El ácido giberélico favoreció, incluso en las de 6 Krad, la emergencia de tallos alargados. La cinetina indujo el desarrollo de brotes gruesos y cortos (fig. 43). En las yemas irradiadas con 9 Krad se notó un ligero desarrollo de los primordios foliares (Tabla XVII) a diferencia de lo observado en las yemas cultivadas en medio sin fitohormonas. Las yemas irradiadas a 12 Krad no mostraron ningún síntoma de desarrollo vegetativo (Tabla XVII).

TABLA XIV .- Evolución semanal del desarrollo de las yemas irradiadas en Diciembre (irradiación temprana) a 3 Krad y sembradas en tres épocas diferentes. Observaciones realizadas en medio Heller sin fitohormonas sobre 24 tubos por siembra.

OBSERVACIONES	Mes de Enero				Mes de Febrero				Mes de Marzo			
	7	14	21	28	7	14	21	28	7	14	21	28
Brotación (%)	0	0	0	4,2	4,2	12,5	41,7	45,8	12,5	16,7	25	50
Brotos por yema brotada	-	-	-	1,5	1,0	1,3	1,4	1,5	1,2	1,3	1,7	2,3
valor medio	-	-	-	-	-	30,2	29,3	33,3	35,6	37,2	35,3	32,3
c.v. (%)												
Longitud total de los brotes de una yema	-	-	-	1,3	0,6	0,8	1,0	1,6	0,5	0,6	1,6	2,3
valor medio (cm)	-	-	-	-	-	23,3	30,1	35,3	33,2	35,3	36,2	33,3
c.v. (%)												
Número total de brotes relativo a 100	0	0	0	6	4	16	58	69	15	22	42	115
Longitud total de los brotes relativa a 100 (cm)	-	-	-	5,5	2,5	10	41,7	73,3	6,2	10,0	40,0	145
Yemas con desarrollo de primordios (%)	25	41,7	79,1	79,1	83,4	83,4	83,4	83,4	75	91,7	100	100
Longitud media de los primordios (valor estimado en mm)	2	2	3	3	2	3	3	3	3	3	3	3
Coefficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud total de los brotes testigo (%)	-	-	-	2,4	2,5	9,1	26,1	29,3	3,1	3,2	7,4	19,3

TABLA XV .- Evolución semanal del desarrollo de las yemas irradiadas en Diciembre (irradiación temprana) a 6 Krad y sembradas en tres épocas diferentes. Observaciones realizadas en medio Heller sin fitohormonas sobre 24 tubos por siembra.

OBSERVACIONES	Mes de Enero				Mes de Febrero				Mes de Marzo			
	7	14	21	28	7	14	21	28	7	14	21	28
Brotación (%)	0	0	0	0	0	0	0	0	4,2	4,2	8,3	12,
Brotos por yema brotada												
valor medio	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	2,0	2,0	2,
c.v. (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15	19,
Longitud total de los brotes de una yema												
valor medio (cm)	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	0,5	0,6	1,
c.v. (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19,3	26,
Número total de brotes relativo a 100	-	-	-	-	-	-	-	-	4	8	17	31
Longitud total de los brotes relativa a 100 (cm)	-	-	-	-	-	-	-	-	2,1	2,1	5,0	12,
Yemas con desarrollo de primordios (%)	0	0	20,8	20,8	16,7	16,7	20,8	20,8	75	83,4	83,4	83,
Longitud media de los primordios (estimada en mm)	-	-	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Coefficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud de los brotes testigo (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	1,0	0,7	0,9	1,

TABLA XVI .- Desarrollo de las yemas irradiadas en Diciembre (irradiación temprana) a 3 y 6 Krad en medio Heller con ácido giberélico y con cinetina. Resultados obtenidos sobre 24 tubos a los 28 días de la siembra.

OBSERVACIONES	Blanco		AG (10 p.p.m.)		Cin (5 p.p.m.)	
	3 Krad	6 Krad	3 Krad	6 Krad	3 Krad	6 Krad
Brotación(%)	45,8	0	50	16,7	58,3	20,8
Brotes por yema brotada						
valor medio	1,5	-	3,4	3,0	2,5	2,8
c.v. (%)	26,7		29,3	32,1	28,3	37,2
Longitud total de los brotes de una yema						
valor medio (cm)	1,6	-	4,1	3,0	1,3	2,0
c.v. (%)	25,6		29,3	29,8	30,5	29,0
Número total de brotes relativo a 100	69	0	170	50	146	58
Longitud total de los brotes relativa a 100 (cm)	73,3	0	205	50,1	75,8	41,6
Yemas con desarrollo de los primordios (%)	83,3	20,8	100	50	91,6	70,8
Longitud media de los primordios (valor estimado en mm)	3	2	6	4	4	2
Coeficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud total de los brotes testigo (de yemas no irradiadas) del mismo tratamiento (%)	29,3	-	17,8	4,3	30,3	16,6



TABLA XVII .- Desarrollo de las yemas irradiadas en Diciembre (irradiación temprana) a 9 y 12 Krad en medio Heller con ácido giberélico y con cinetina. Resultados obtenidos sobre 24 tubos a los 28 días de la siembra.

OBSERVACIONES	Blanco		AG (10 p.p.m.)		Cin (5 p.p.m.)	
	9 Krad	12 Krad	9 Krad	12 Krad	9 Krad	12 Krad
Brotación normal (%)	0	0	0	0	0	0
Brotación truncada (%)	0	0	0	0	0	0
Yemas con desarrollo de los primordios (%)	0	0	8,3	0	16,7	0
Longitud media de los primordios (valor estimado en mm)	-	-	3	-	3	-
Coeficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud total de los brotes testigo (de yemas no irradiadas del mismo tratamiento) (%)	-	-	-	-	-	-

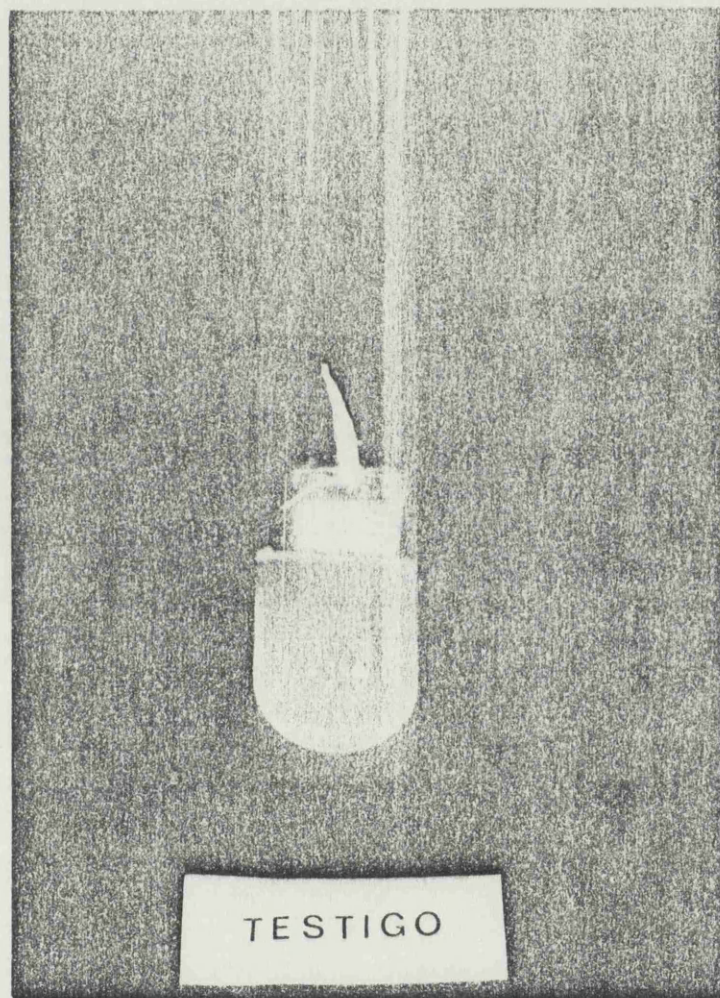


Fig. 35.- Desarrollo de una yema testigo cultivada en medio Heller.

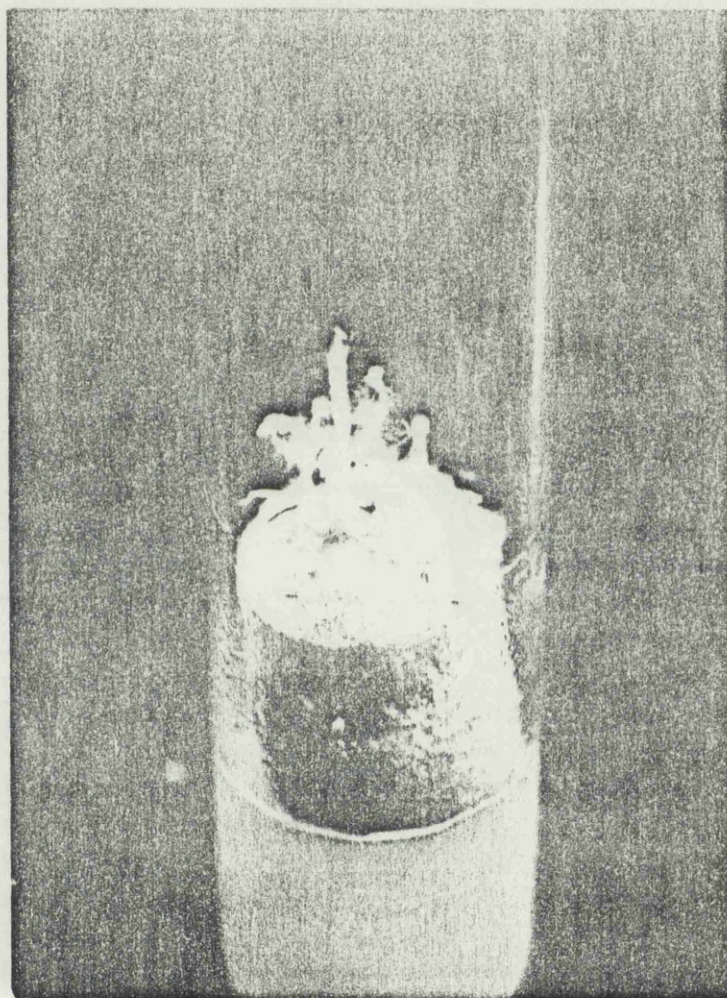


Fig. 36.- Desarrollo de una yema testigo cultivada en medio Heller con 10 p.p.m. de A.G.



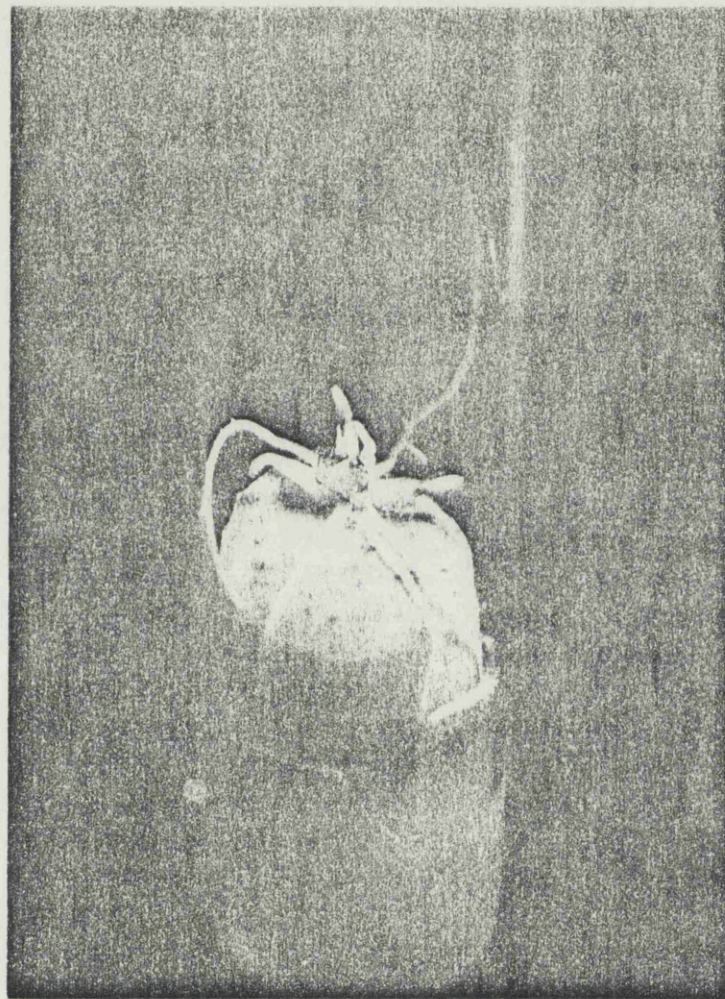


Fig. 37.- Desarrollo de una yema testigo cultivada  
en medio Heller con 5 p.p.m. de cinetina.






















	Blanco	Acido Giberélico	Cinetina	
Testigo				Tallos
3 Krad				Primordios
				Tallos
6 Krad				Primordios
				Tallos
9 Krad				Primordios
12 Krad				

Fig. 38.- Esquema de los tipos morfológicos de desarrollo de yemas testigo e irradiadas tempranamente, bajo la acción de los distintos tratamientos.

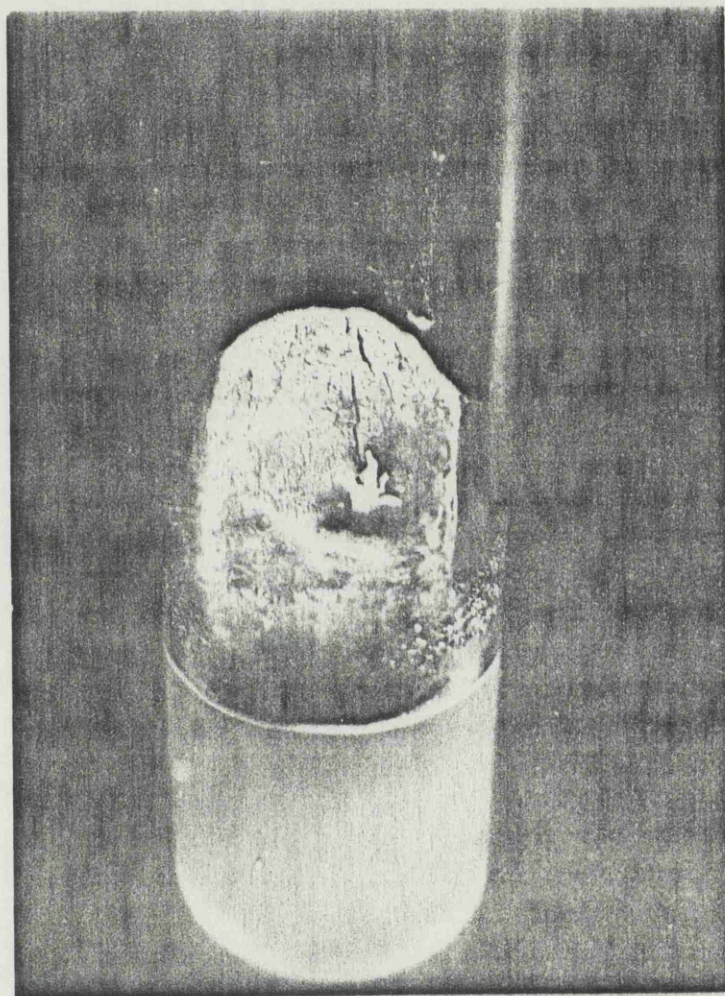


Fig. 39.- Roseta basal de una yema irradiada tempranamente a dosis de 3 Krad y cultivada en medio Heller.



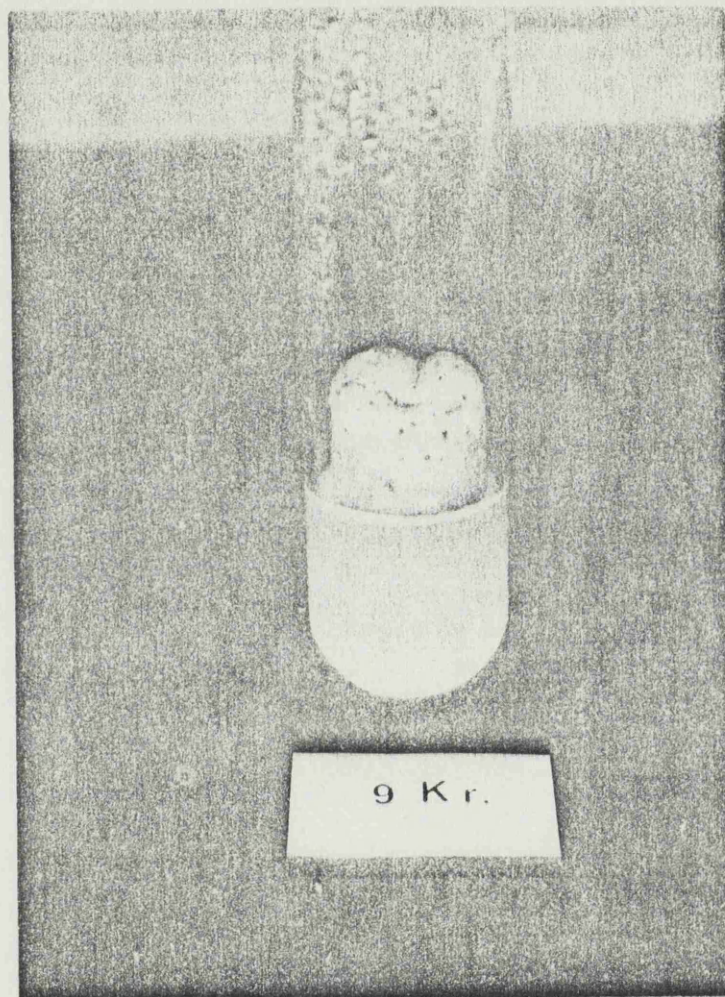


Fig. 40.- Yema irradiada tempranamente a dosis de 9 Krad y cultivada en medio Heller.

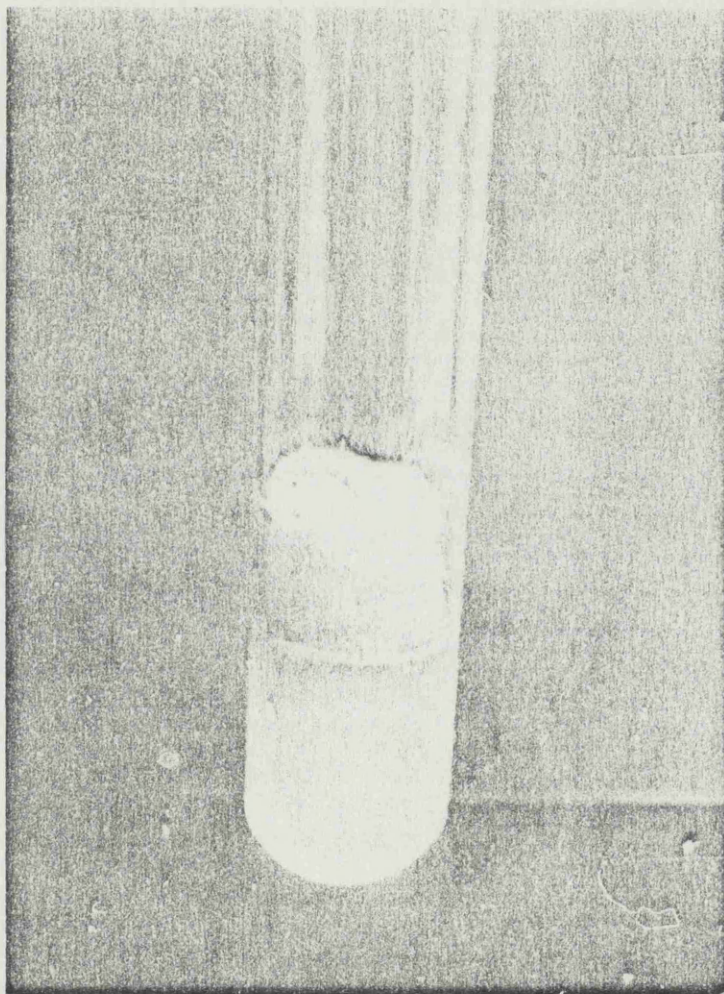


Fig. 41.- Yema irradiada tempranamente a dosis de 6 Krad y cultivada en medio Heller con 10 p.p.m. de AG.



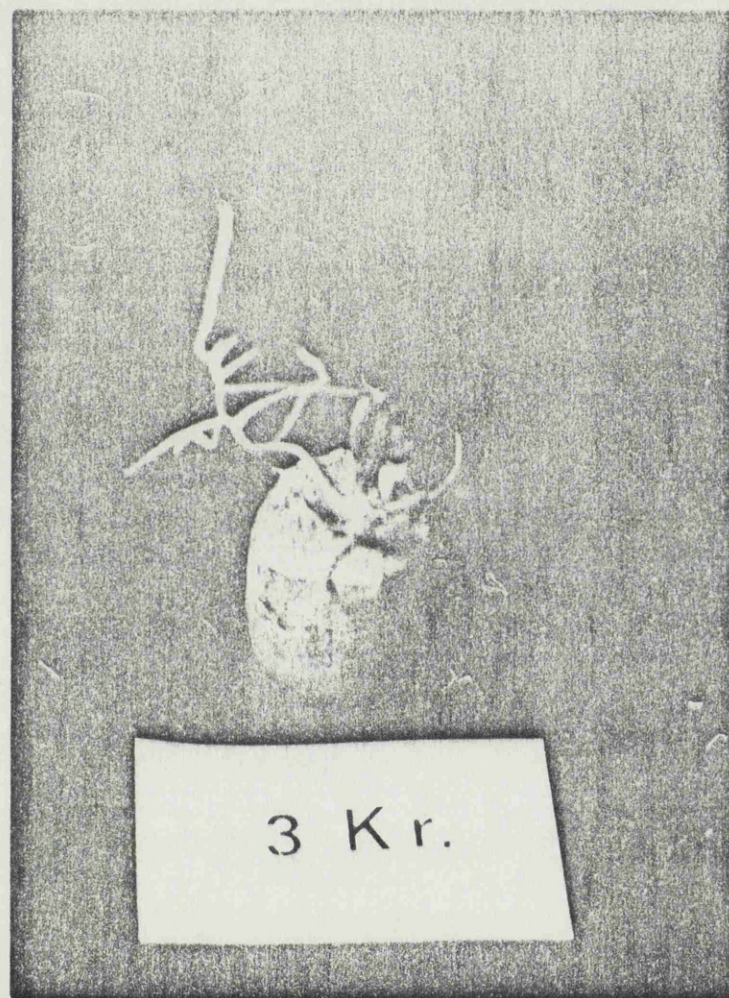
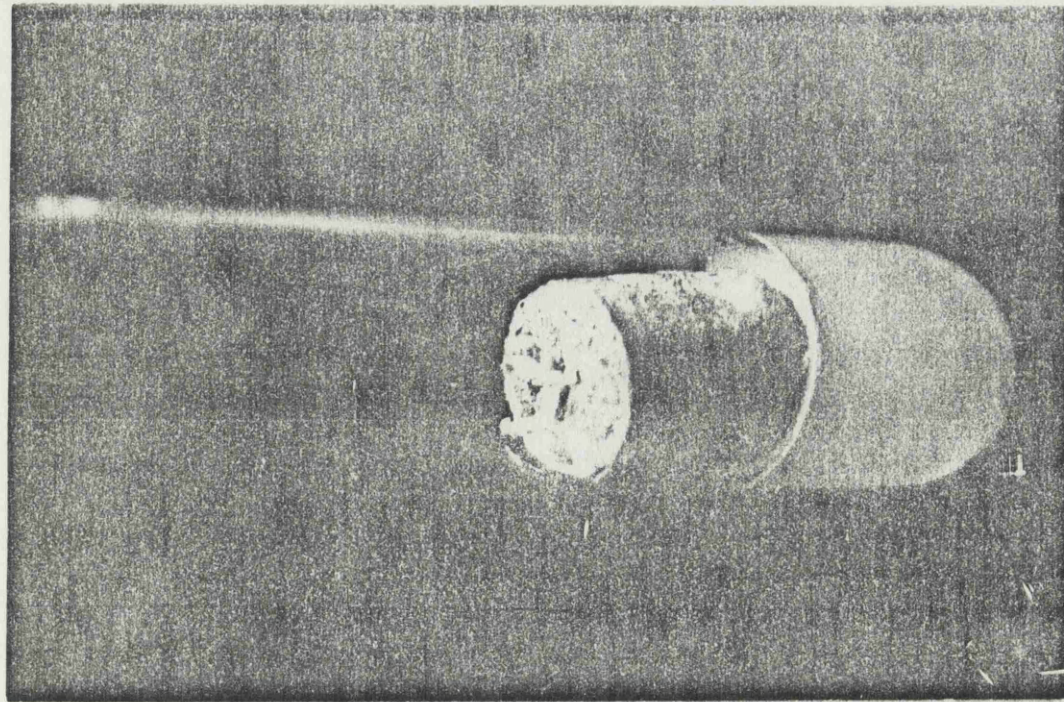


Fig. 42.- Yema irradiada tempranamente a dosis de 3 Krad y cultivada en medio Heller con 5 p.p.m. de cinetina.





A



B

Fig. 43.- Yema irradiada tempranamente a dosis de 3 Krad y cultivada en medio Heller con 5 p.p.m. de cinetina. A) vista en conjunto. B) Detalle del brote central y de la roseta basal.

### 3.2.2.2. Irradiación tardía

#### 3.2.2.2.1. Solución nutritiva sin fitohormonas

La evaluación semanal del crecimiento de las yemas irradiadas a mediados de Enero a 3 y a 6 Krad se expresa en las Tablas XVIII y XIX. A diferencia de las observaciones realizadas en yemas irradiadas al poco tiempo de la recolección, en éstas se observó en algunos casos la aparición de unos brotes especiales que se denominaron brotes truncados (fig. 44), caracterizados por formar en un principio una roseta de primordios foliares que poco a poco va emergiendo y separándose de su origen por efecto del empuje del tallo hasta que, en un momento dado, éste detiene su crecimiento dando así origen a una formación de tallo truncado o roseta pedunculada cuyo meristemo apical está destruido. En las yemas irradiadas a 9 y 12 Krad, no aparecieron tallos normales ni truncados y únicamente hubo desarrollo de los primordios foliares en el 50% de las yemas irradiadas a 9 Krad y en el 25% de las irradiadas a 12 Krad. En ambos tipos de desarrollo, los primordios tenían unos 2 mm de longitud.

#### 3.2.2.2.2. Solución nutritiva con fitohormonas

El efecto del ácido giberélico y de la cinetina

sobre las yemas irradiadas en un estado avanzado de su evolución se expresa en las Tablas XX y XXI y se representa esquemáticamente en la figura 45.

En general se observó que las fitohormonas pusieron más de manifiesto el que la irradiación se realizó sobre yemas que tenían hechas ya un cierto número de divisiones caulinares, y, como consecuencia, los primordios foliares en lugar de emerger desde la base de la yema (como ocurría en la irradiación temprana), lo hacían en forma compacta desde un punto cercano a ésta en el caso de que hubiera pocas divisiones efectuadas (figs. 46 y 47), y a una cierta distancia cuando el número de divisiones era mayor dando así origen a los tallos truncados que, en este caso, acusaron el efecto de las fitohormonas en su forma de desarrollo (figs. 48 y 49).

En las yemas que habían recibido 9 y 12 Krad no hubo desarrollo de tallos normales ni truncados observándose únicamente un ligero alargamiento de los primordios foliares.

### 3.2.3. Comparación de resultados

En las figuras 50 y 51 se expresan comparativamente los valores obtenidos a los 28 días después de la siembra, respecto a la brotación y longitud total de los brotes de las yemas testigo e irradiadas, sembradas en tres épocas distintas del desarrollo del tubérculo.

En las figuras 52 y 53 se expresan los resultados obtenidos en la brotación y desarrollo de yemas testigo e irradiadas como consecuencia del tratamiento con ácido giberélico y cinetina.

TABLA XVIII .- Evolución semanal del desarrollo de las yemas irradiadas en Enero (irradiación tardía) a 3 Krad y sembradas en dos épocas diferentes. Observaciones realizadas en medio Heller sin fitohormonas sobre 24 tubos por siembra.

OBSERVACIONES	Mes de Febrero				Mes de Marzo			
	7	14	21	28	7	14	21	28
Brotación normal (%)	12,5	16,7	16,7	50	8,3	16,7	25	58,3
Brotación truncada (%)	0	12,5	12,5	12,5	8,3	8,3	8,3	8,3
Brotes normales por yema brotada								
valor medio	1	1	1	1	1	1	1,3	1,3
c.v. (%)	-	-	-	-	-	-	26,8	28,3
Longitud total de los brotes de una yema de brotación normal								
valor medio (cm)	0,3	0,6	0,7	0,8	0,6	0,8	1,3	1,3
c.v. (%)	27,2	25,1	21,3	23,2	26,5	29,3	26,5	25,3
Longitud del brote truncado								
valor medio (cm)	-	0,2	0,3	0,7	0,2	0,2	0,2	0,2
c.v. (%)	-	15,2	19,3	16,7	23,2	23,2	23,2	23,2
Numero total de brotes relativo a 100	12	29	29	62	16	25	40	84
Longitud total de los brotes relativa a 100 (cm)	3,7	12,5	15,4	48,7	6,7	15,1	34,2	77,5
Yemas con desarrollo de los primordios (%)	50	66,7	83,4	83,4	41,7	66,7	66,7	66,7
Longitud media de los primordios (valor estimado en mm)	2,3	3,2	4	4	2	4	4	4
Coeficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud total de los brotes testigo (no irradiados) (%)	3,7	11,4	9,6	19,5	3,3	4,9	6,3	10,5



TABLA XIX .- Evolución semanal del desarrollo de las yemas irradiadas en Enero (irradiación tardía) a 6 Krad y sembradas en dos épocas diferentes. Observaciones realizadas en medio Heller sin fitohormonas sobre 24 tubos por siembra.

OBSERVACIONES	Mes de Febrero				Mes de Marzo			
	7	14	21	28	7	14	21	28
Brotación normal (%)	0	0	4,1	8,3	8,3	33,3	33,3	33,3
Brotación truncada (%)	0	0	12,5	16,7	8,3	8,3	8,3	8,3
Brotes normales por yema brotada								
valor medio	-	-	1	1	1	1	1	1,5
c.v. (%)	-	-	-	-	-	-	-	22,3
Longitud total de los brotes de una yema de brotación normal								
valor medio (cm)	-	-	0,6	0,8	0,4	0,6	0,7	1,6
c.v. (%)	-	-	-	25,9	26,7	22,3	25,2	26,3
Longitud del brote truncado								
valor medio (cm)	-	-	0,4	0,6	0,3	0,3	0,3	0,3
c.v. (%)	-	-	-	18,9	27,6	25,3	25,3	25,3
Número total de brotes relativo a 100	-	-	16	25	16	41	41	58
Longitud total de los brotes relativa a 100 (cm)			7,5	16,6	5,8	4,5	25,8	55,8
Yemas con desarrollo de los primordios (%)	83,4	83,4	83,4	83,4	25	33,3	37,5	41,7
Longitud media de los primordios (valor estimado en mm)	2	2	3	3	2	3	3	3
Coefficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud total de los brotes testigo (no irradiados) (%)	-	-	4,7	6,6	2,9	1,4	4,8	7,5

TABLA XX .- Desarrollo de las yemas irradiadas en Enero (irradiación tardía) a 3 y 6 Krad en medio Heller con ácido giberélico y con cinetina. Resultados obtenidos sobre 24 tubos a los 28 días de la siembra.

OBSERVACIONES	Blanco		AG (10 p.p.m.)		Cin (5 p.p.m.)	
	3 Krad	6 Krad	3 Krad	6 Krad	3 Krad	6 Krad
Brotación normal(%)	50	8,3	54,1	12,5	58,3	16,7
Brotación truncada (%)	12,5	16,6	25	33,3	12,5	12,5
Brotes normales por yema brotada						
valor medio	1,0	1,0	1,8	2,0	1,5	1,2
c.v. (%)	-	-	30,3	32,8	28,3	29,2
Longitud total de los brotes de una yema de brotación normal						
valor medio (cm)	0,8	0,8	1,8	2,0	1,0	0,8
c.v. (%)	26,5	28,3	27,3	29,4	21,2	27,9
Longitud del brote truncado						
valor medio (cm)	0,7	0,6	1,5	1,2	0,6	0,6
c.v. (%)	16,3	20,2	18,6	22,2	18,3	18,5
Número total de brotes relativo a 100	62	25	122	58	99	32
Longitud total de los brotes relativa a 100 (cm)	48,7	16,6	134,9	64,9	65,8	20,8
Yemas con desarrollo de los primordios (%)	83,3	83,3	100	83,3	83,3	70,8
Longitud media de los primordios (valor estimado en mm)	4	3	8	5	5	4
Coeficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud total de los brotes testigo (no irradiados (%))	19,5	6,6	11,7	5,6	26,3	8,3



TABLA XXI .- Desarrollo de las yemas irradiadas en Enero (irradiación tardía) a 9 y 12 Krad en medio Heller con ácido giberélico y con cinetina. Resultados obtenidos sobre 24 tubos a los 28 días de la siembra.

OBSERVACIONES	Blanco		AG (10 p.p.m.)		Cin (5 p.p.m.)	
	9 Krad	12 Krad	9 Krad	12 Krad	9 Krad	12 Krad
Brotación normal (%)	0	0	0	0	0	0
Brotación truncada (%)	0	0	0	0	0	0
Longitud del brote truncado						
valor medio (cm)	-	-	-	-	-	-
c.v. (%)						
Longitud total de los brotes relativa a 100	-	-	-	-	-	-
Yemas con desarrollo de los primordios (%)	50	25	66,7	58,3	91,6	79,1
Longitud media de los primordios (valores estimados en mm)	2	2	3	2,5	2	2
Coeficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud total de los brotes testigo (de yemas no irradiadas del mismo tratamiento) (%)	-	-	-	-	-	-

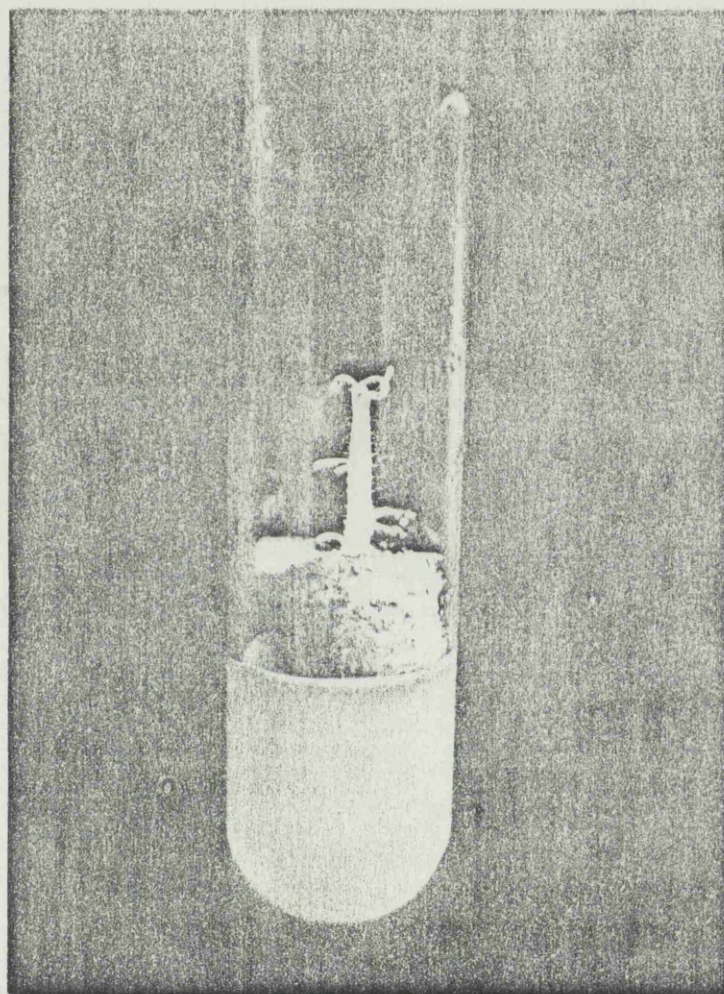


Fig. 44.- Brote truncado producido por la irradiación tardía. Yema irradiada a 3 Krad cultivada en medio Heller.




























	Blanco	Acido Giberélico	Cinetina	
Testigo				Tallos
3 Krad				Primordios
				Tallos
				Tallo truncado
6 Krad				Primordios
				Tallos
				Tallos truncados
9 Krad				Primordios
12 Krad				Primordios

Fig. 45.- Esquema de los tipos morfológicos de desarrollo de yemas testigo e irradiadas tardíamente, bajo la acción de los distintos tratamientos.



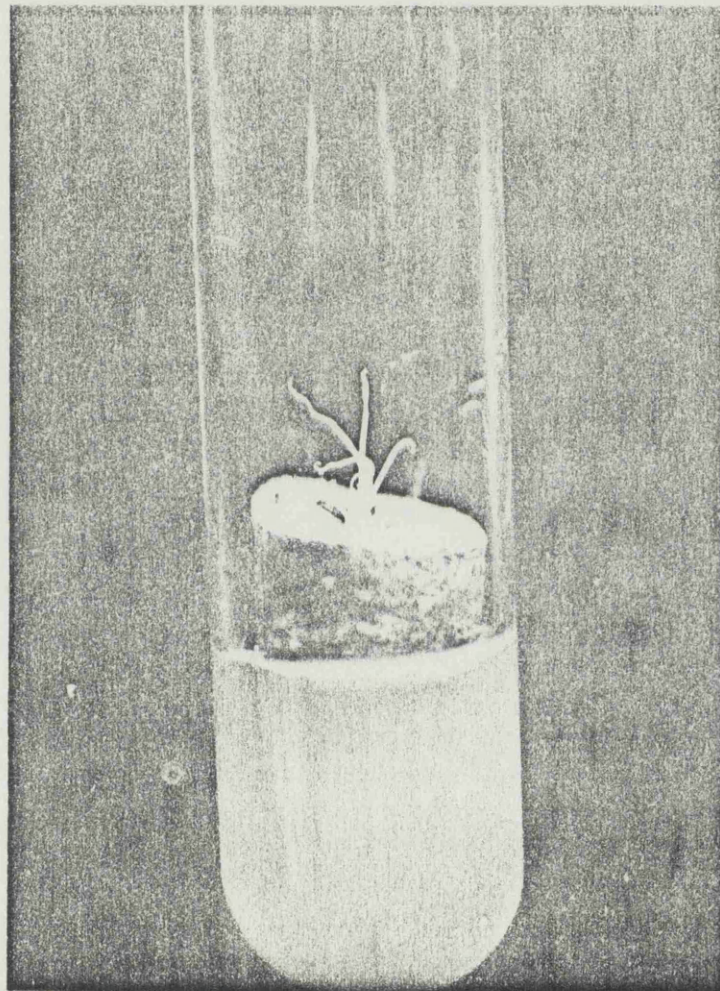


Fig. 46.- Yema irradiada tardíamente a dosis de 3 Krad y cultivada en medio Heller con 10 p.p.m. de AG.

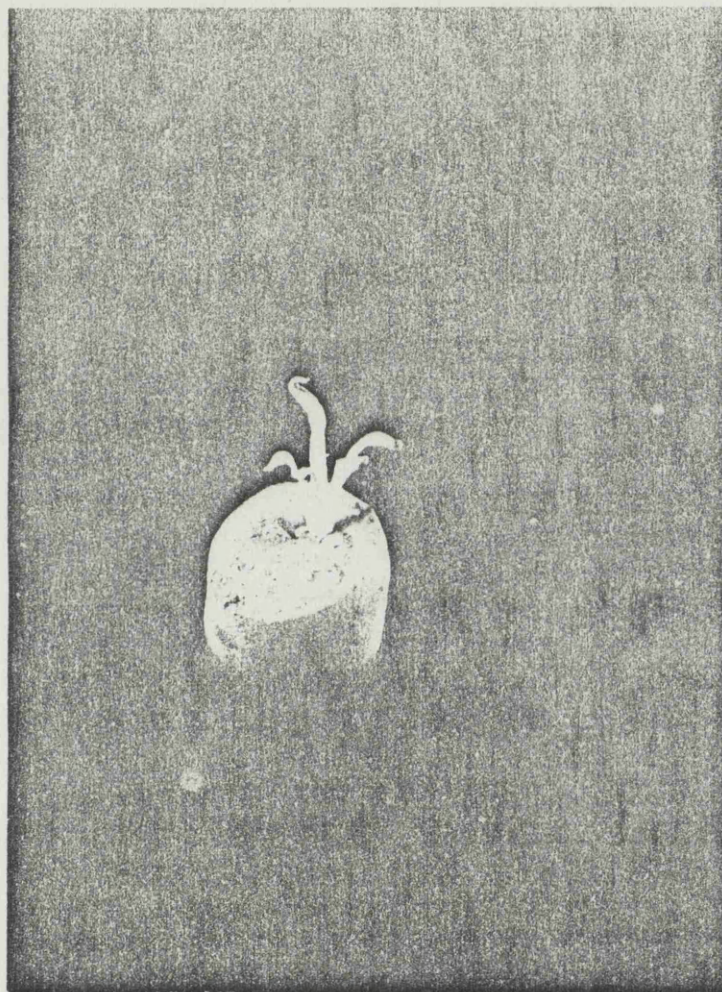


Fig. 47.- Yema irradiada tardíamente a dosis de  
3 Krad y cultivada en medio Heller con  
5 p.p.m. de cinetina.



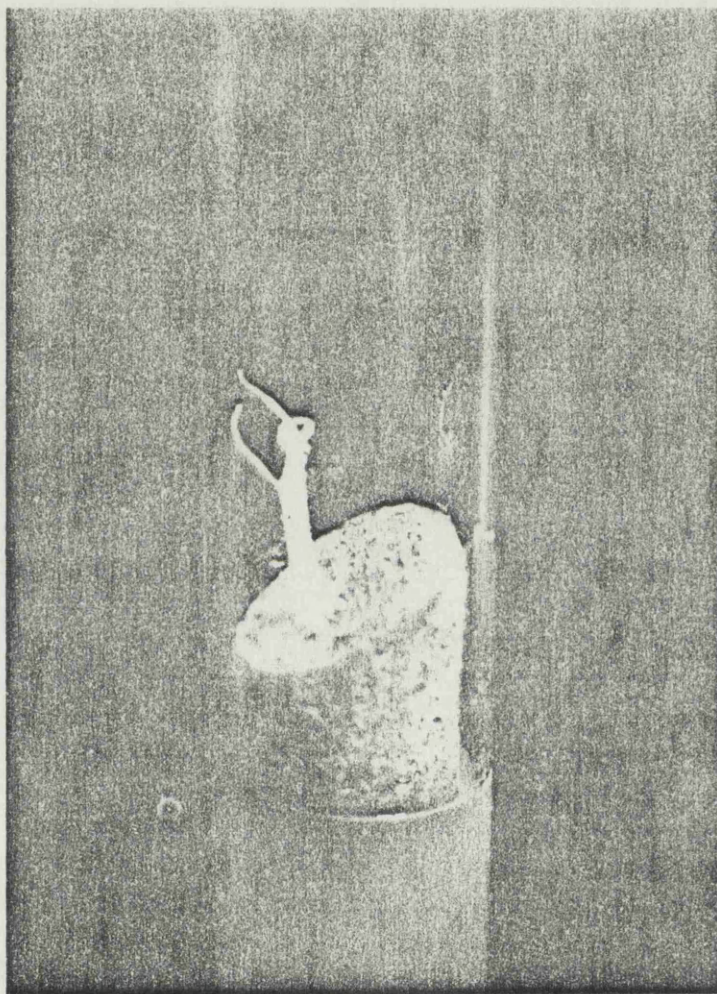


Fig. 48.- Yema irradiada tardíamente a dosis de 3 Krad y cultivada en medio Heller con 10 p.p.m. de AG.

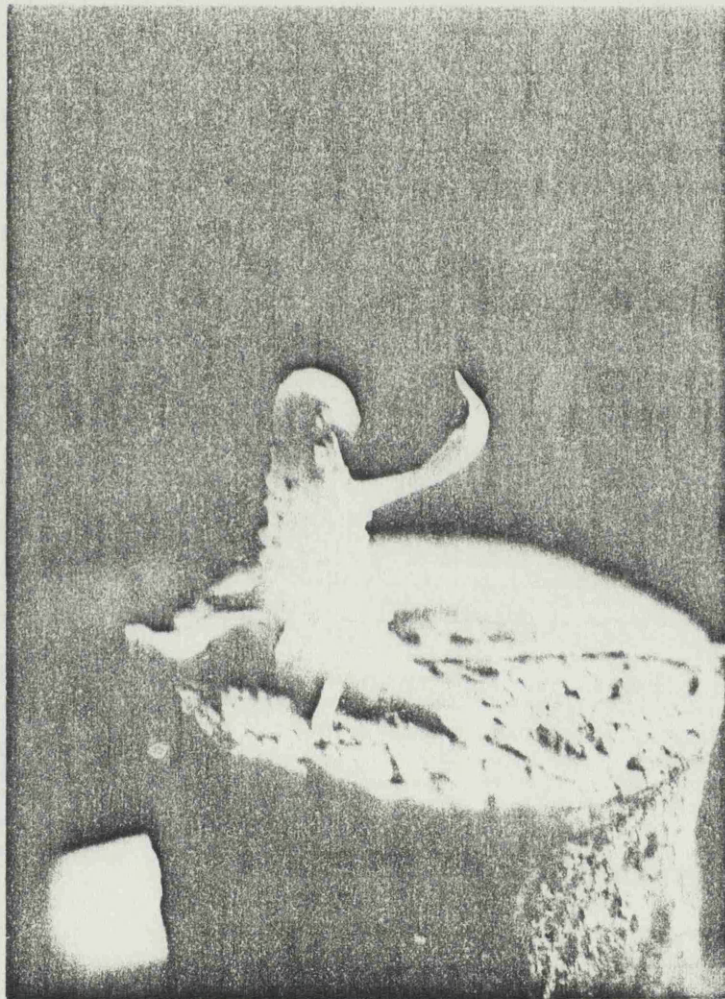


Fig. 49.- Yema irradiada tardíamente a dosis de 3 Krad y cultivada en medio Heller con 5 p.p.m. de cinetina.

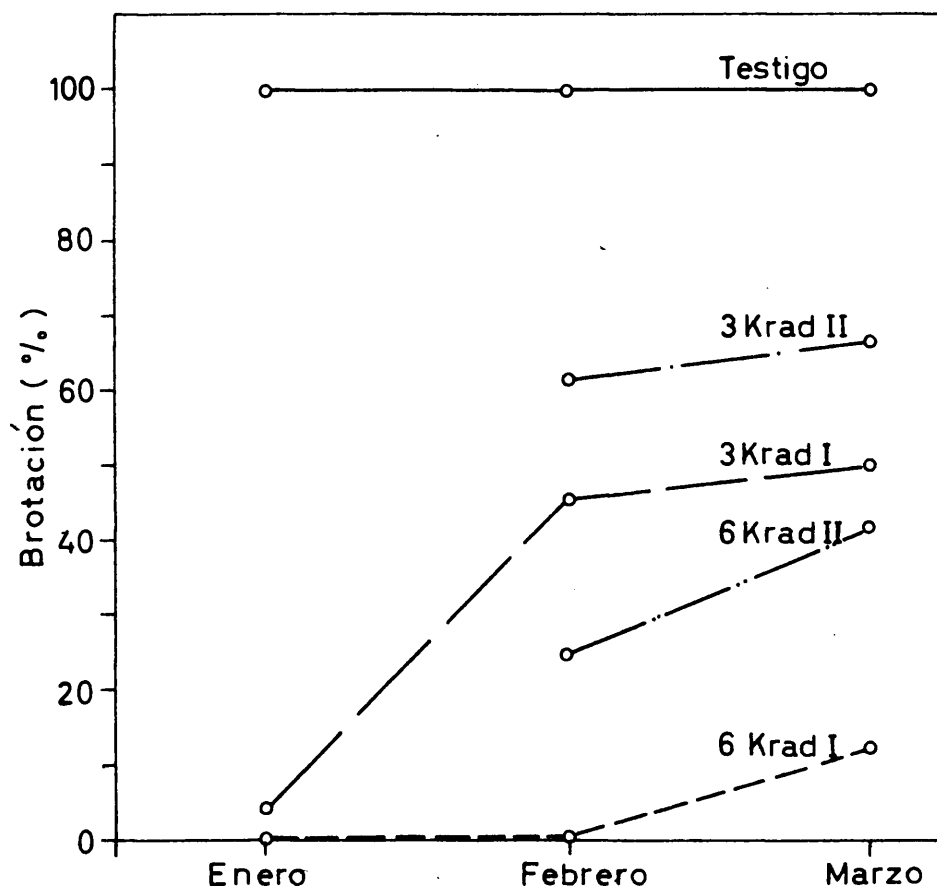


Fig. 50.- Diagrama comparativo de los valores de brotación de las yemas testigo e irradiadas, sembradas en medio Heller, en tres épocas. Observaciones realizadas a los 28 días. I irradiación de Diciembre; II irradiación de Enero.



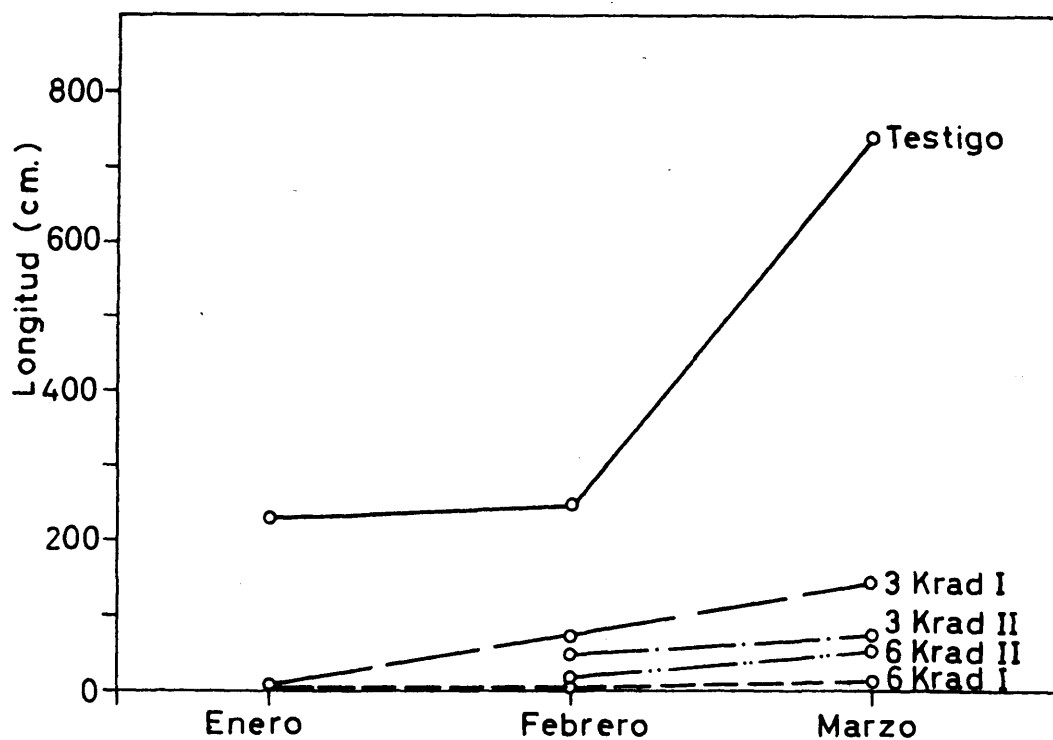


Fig. 51.- Diagrama comparativo de la longitud total de los brotes de las yemas testigo e irradiadas, al cabo de 28 días de cultivo en medio Heller. Valores referidos a cien yemas, en tres épocas de siembra. I irradiación de Diciembre; II irradiación de Enero.

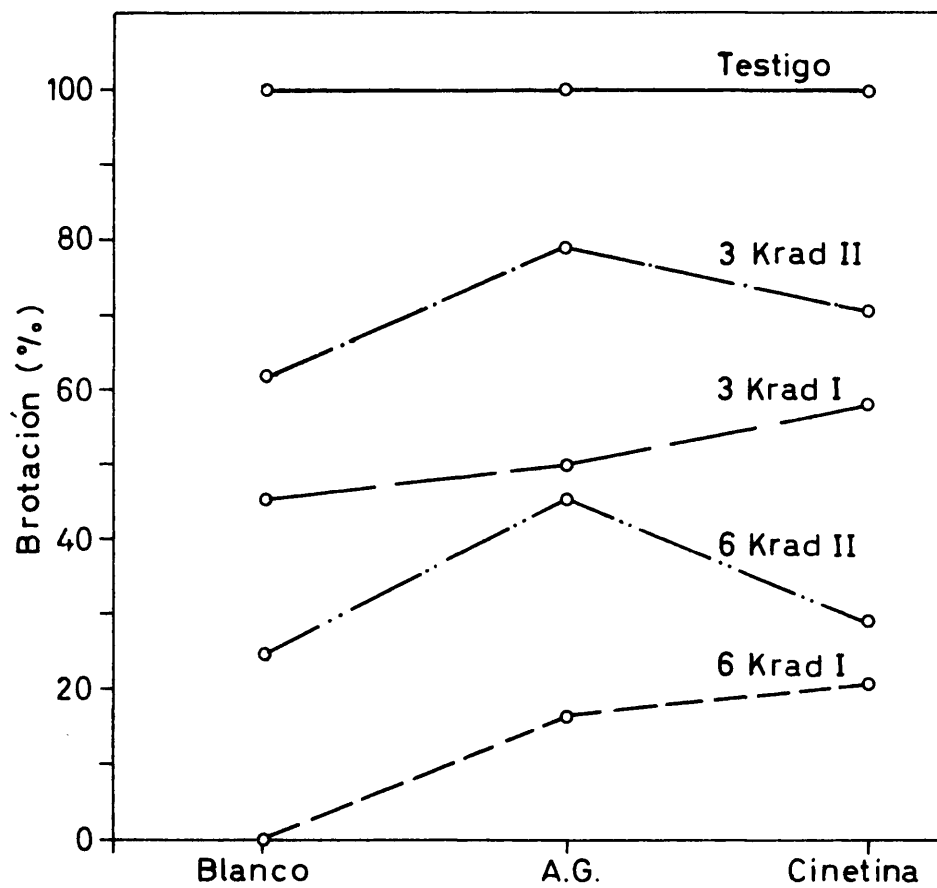


Fig. 52.- Diagrama comparativo de la brotación final de las yemas testigo e irradiadas, cultivadas en medio Heller con fitorreguladores durante 28 días. I irradiación de Diciembre; II irradiación de Enero.

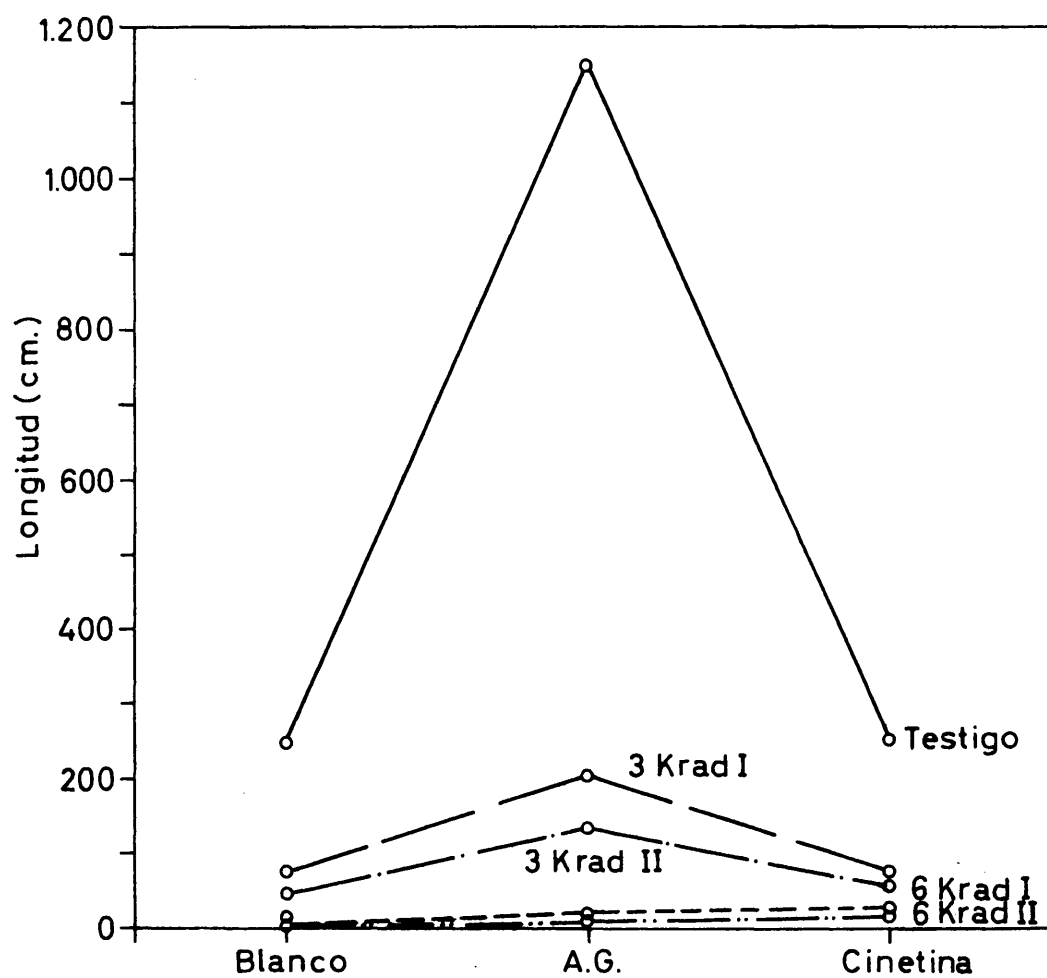


Fig. 53.- Diagrama comparativo de las longitudes totales de las yemas testigo e irradiadas, cultivadas en medio Heller con fitorreguladores durante 28 días. Valores referidos a 100 yemas. I irradiación de Diciembre; II irradiación de Enero.

### 3.3. DESARROLLO DE YEMAS INJERTADAS SOBRE PAREN- QUIMA

#### 3.3.1. Yemas injertadas sobre su propio parénquima

Con objeto de estudiar previamente el efecto del injerto sobre el desarrollo de las yemas, se realizaron una serie de siembras en las que las yemas procedentes de los tubérculos de cada tratamiento se injertaban sobre parénquimas procedentes de tubérculos de su mismo tratamiento. En las Tablas XXII y XXIII se expresan los resultados obtenidos al cabo de 28 días de desarrollo. Las siembras se realizaron en el mes de Febrero en el que los tubérculos no irradiados habían ya finalizado su estado de reposo y los valores obtenidos son comparables a los que se encontraron en el desarrollo de yemas aisladas cultivadas en solución nutritiva en la misma época. En la figura 54 se observa el detalle del desarrollo de una yema testigo injertada sobre parénquima de su mismo tipo.

#### 3.3.2. Yemas no irradiadas injertadas sobre parénquima irradiado

El efecto del parénquima procedente de tubérculos irradiados tanto temprana como tardíamente sobre el desarrollo de yemas no irradiadas (testigo) se expresa en la Tabla XXIV. En las figuras 55, 56 y 57 se observa el detalle del desarrollo de esta clase de injertos.

### 3.3.3. Yemas irradiadas injertadas sobre parénquima no irradiado

Los resultados obtenidos en el estudio del desarrollo de las yemas irradiadas sobre parénquima no irradiado se expresan en las Tablas XXV y XXVI.

### 3.3.4. Comparación de resultados

En las figuras 58 y 59 se comparan los resultados obtenidos respecto a brotación y longitud de las yemas, a los 28 días de efectuadas las siembras.

TABLA XXII .- Desarrollo de las yemas irradiadas en Diciembre (irradiación tem-  
prana) injertadas sobre su mismo parénquima y sembradas en me-  
dio Heller. Resultados obtenidos sobre 24 tubos a los 28 días de  
la siembra.

OBSERVACIONES	Yema	Testigo	3 Krad	6 Krad	9 Krad	12 Krad
	Parénquima					
Brotación(%)		100	25	0	0	0
Brotes por yema brotada						
valor medio		1,4	1	-	-	-
c.v. (%)		27,6	-	-	-	-
Longitud total de los brotes de una yema						
valor medio (cm)		2	0,8	-	-	-
c.v. (%)		29,7	31,2			
Número total de brotes relativo a 100		140	25	-	-	-
Longitud total de los brotes relativa a 100 (cm)		200	20	-	-	-
Yemas con desarrollo de primordios %		0	83,4	20,8	0	0
Longitud media de los primordios (valor estimado en mm)		-	3	2	-	-
Coefficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud total de los brotes testigo (%)		100	10	-	-	-

TABLA XXIII .- Desarrollo de las yemas irradiadas en Enero (irradiación tardía) injertadas sobre su mismo parénquima y sembradas en medio Heller. Resultados obtenidos sobre 24 tubos a los 28 días de la siembra.

OBSERVACIONES	Yema	Testigo	3 Krad	6 Krad	9 Krad	12 Krad
	Parénquima	Testigo	3 Krad	6 Krad	9 Krad	12 Krad
Brotación normal (%)		100	16,7	4,1	0	0
Brotación truncada (%)		0	8,3	4,1	0	0
Brotes normales por yema brotada						
valor medio		1,4	1,3	1,0	-	-
c.v. (%)		27,6	26,5	-	-	-
Longitud total de los brotes de una yema de brotación normal						
valor medio (cm)		2	0,6	0,5	-	-
c.v. (%)		29,7	27,5	-	-	-
Longitud del brote truncado						
valor medio (cm)		-	0,3	0,3	-	-
c.v. (%)		-	28,5	-	-	-
Número total de brotes relativo a 100		140	30	8,2	-	-
Longitud total de los brotes relativa a 100		200	12,5	3,2	-	-
Yemas con desarrollo de los primordios		0	83,4	83,4	50	25
Longitud media de los primordios (valor estimado en mm)		-	4	3	2	2
Coefficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud total de los brotes testigo (no irradiados) (%)		100	6,2	1,6	-	-

TABLA XXIV .- Desarrollo de las yemas testigo injertadas sobre parénquima irradiado, sembrados en medio Heller. Resultados obtenidos sobre 24 tubos a los 28 días de la siembra.

OBSERVACIONES	Parénquima Testigo	Irradiación temprana				Irradiación tardía			
		3 Krad	6 Krad	9 Krad	12 Krad	3 Krad	6 Krad	9 Krad	12 Krad
Brotación (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Brotes por yema brotada									
valor medio	1,4	1,3	1,1	1	1	1,1	1,2	1	
c.v. (%)	27,6	28,1	26,2	-	-	27,2	29,4	-	
Longitud total de los brotes de una yema									
valor medio (cm)	2	1,4	1,4	1,1	0,8	1,8	1,6	0,9	
c.v. (%)	29,7	26,2	31,5	30,4	28,3	28,2	32,1	30,2	
Número total de brotes relativo a 100	140	130	110	100	100	110	120	100	100
Longitud total de los brotes relativa a 100 (cm)	200	140	140	110	80	180	160	90	100
Yemas con desarrollo de primordios	0	0	0	0	0	0	0	0	
Longitud media de los primordios (valor estimado en mm)	-	-	-	-	-	-	-	-	
Coefficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud total de los brotes testigo (%)	100	70	70	55	40	90	80	45	



TABLA XXV .- Desarrollo de las yemas irradiadas en Diciembre (irradiación temprana)  
 injertadas sobre parénquima testigo y sembradas en medio Heller. Resultados obtenidos sobre 24 tubos a los 28 días de la siembra.

OBSERVACIONES	Yema	Testigo	3 Krad	6 Krad	9 Krad	12 Krad
	Parénquima	T E S T I G O				
Brotación (%)		100	25	0	0	0
Brotes por yema brotada						
valor medio		1,4	1	-	-	-
c.v. (%)		27,6	-	-	-	-
Longitud total de los brotes de una yema brotada						
valor medio (cm)		2	1,2	-	-	-
c.v. (%)		29,7	28,6	-	-	-
Número total de brotes relativo a 100		140	25	-	-	-
Longitud total de los brotes relativa a 100 (cm)		200	30,5	-	-	-
Yemas con desarrollo de primordios (%)		0	91,7	66,7	0	0
Longitud media de los primordios (valor estimado en mm)		-	3	2	-	-
Coefficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud total de los brotes testigo (%)		100	15,2	-	-	-

TABLA XXVI .- Desarrollo de las yemas irradiadas en Enero (irradiación tardía) injertadas sobre parénquima testigo y sembradas en medio Heller. Resultados obtenidos sobre 24 tubos a los 28 días de la siembra.

OBSERVACIONES	Yema	Testigo	3 Krad	6 Krad	9 Krad	12 Krad
	Parénquima	T E S T I G O				
Brotación normal (%)		100	16,7	4,1	0	0
Brotación truncada (%)		0	12,5	8,3	0	0
Brotes por yema brotada						
valor medio		1,4	1,3	1,0	-	-
c.v. (%)		27,6	28,6	-	-	-
Longitud total de los brotes de una yema de brotación normal						
valor medio (cm)		2	0,8	0,5	-	-
c.v. (%)		29,7	26,5	-	-	-
Longitud del brote truncado						
valor medio (cm)		-	0,5	0,4	-	-
c.v. (%)		-	32,5	-	-	-
Número total de brotes relativo a 100		140	34,2	12,4	-	-
Longitud total de los brotes relativa a 100		200	19,6	5,4	-	-
Yemas con desarrollo de los primordios (%)		0	91,6	83,4	50	25
Longitud media de los primordios (valor estimado en mm)		-	4	3	2	2
Coefficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud total de los brotes testigo (no irradiados) (%)		100	9,8	2,7	-	-

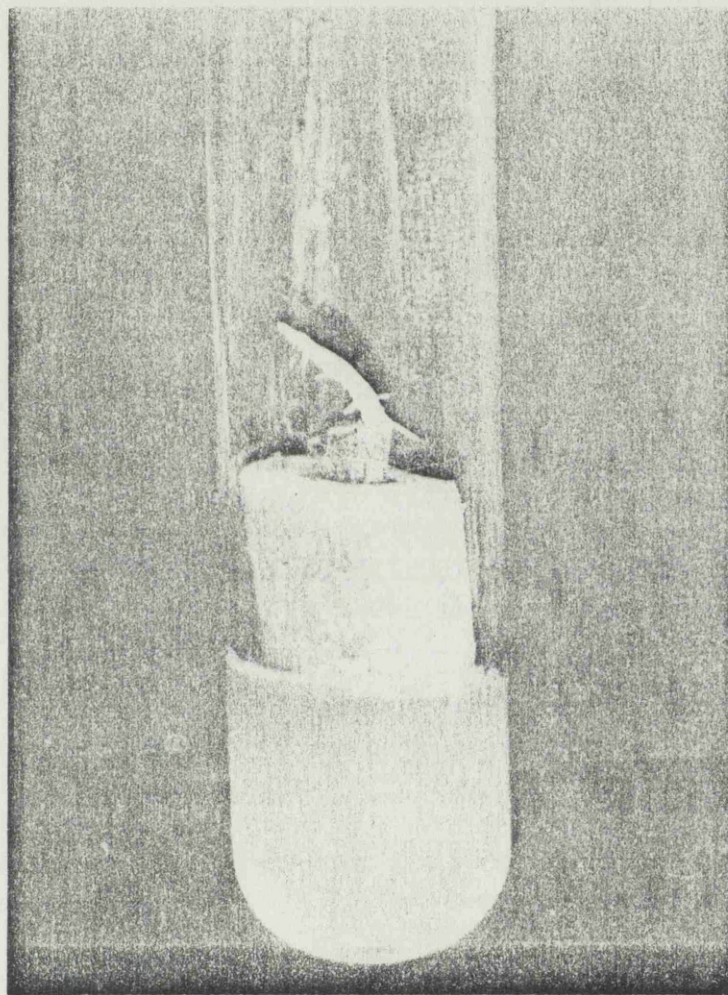


Fig. 54.- Desarrollo de una yema testigo injertada sobre parénquima de su mismo tipo.

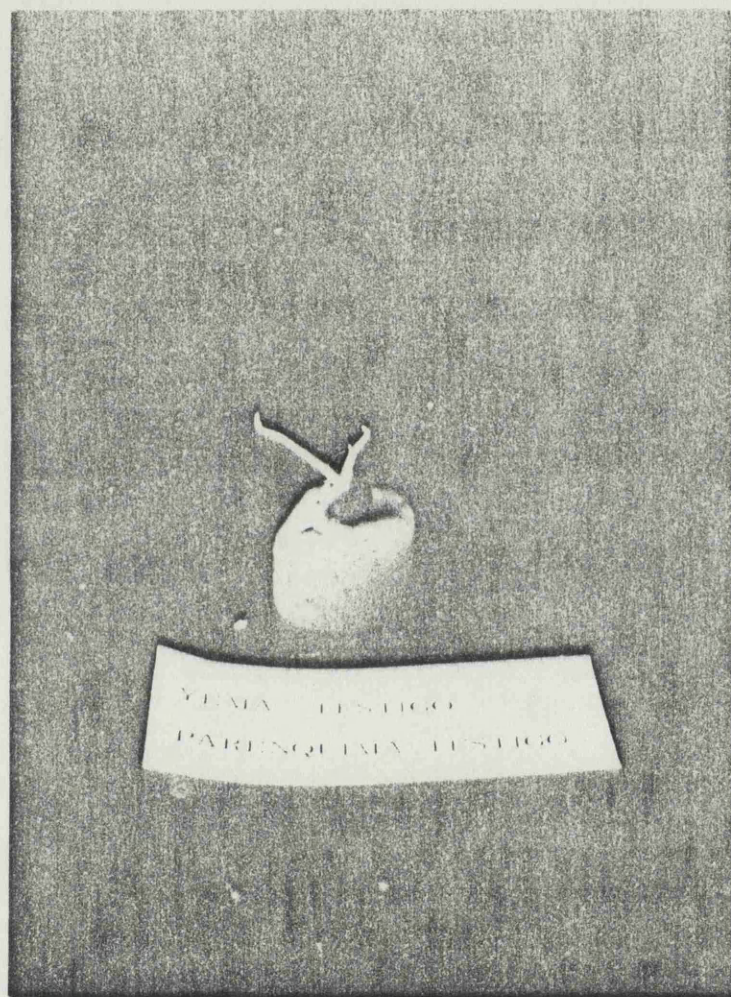
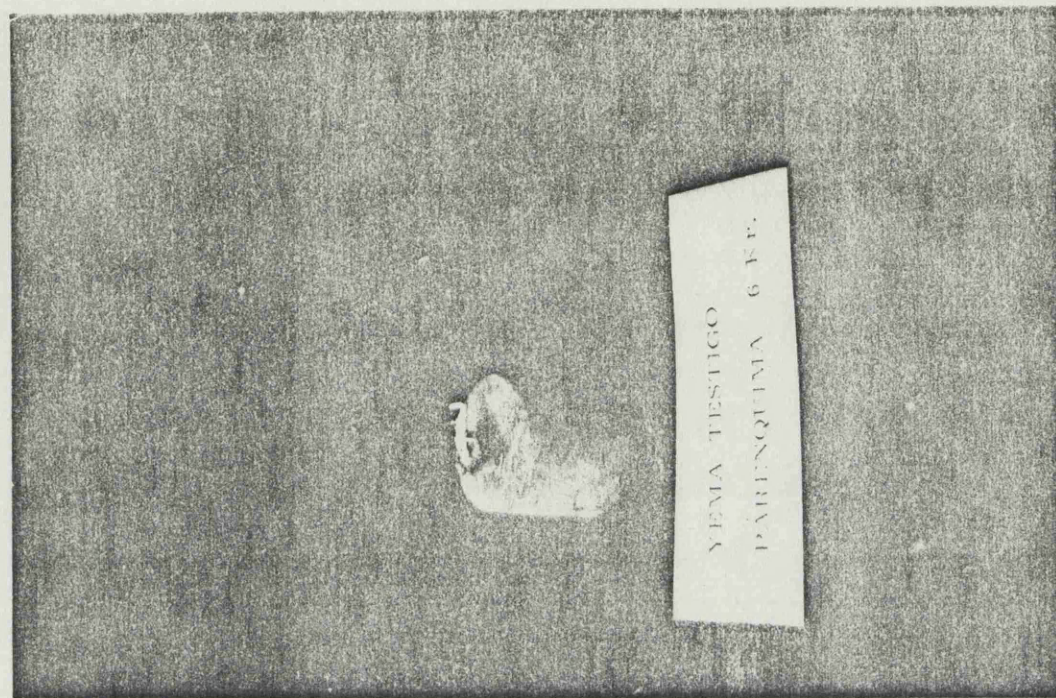


Fig. 55.- Detalle del desarrollo de una yema testigo injertada sobre parénquima testigo.





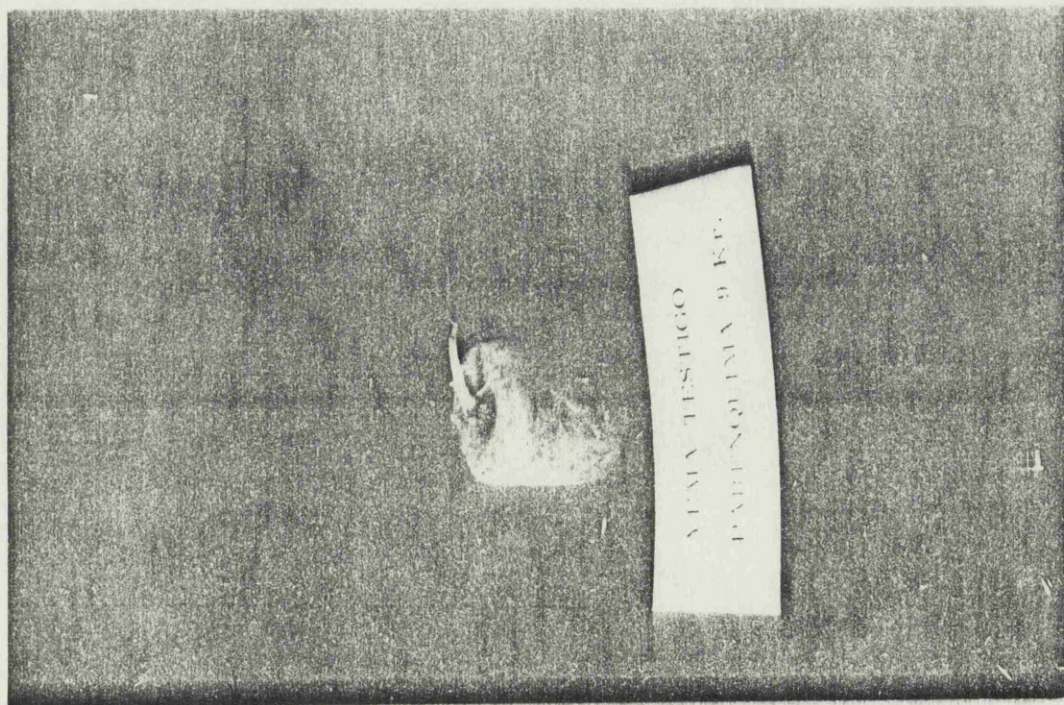
A



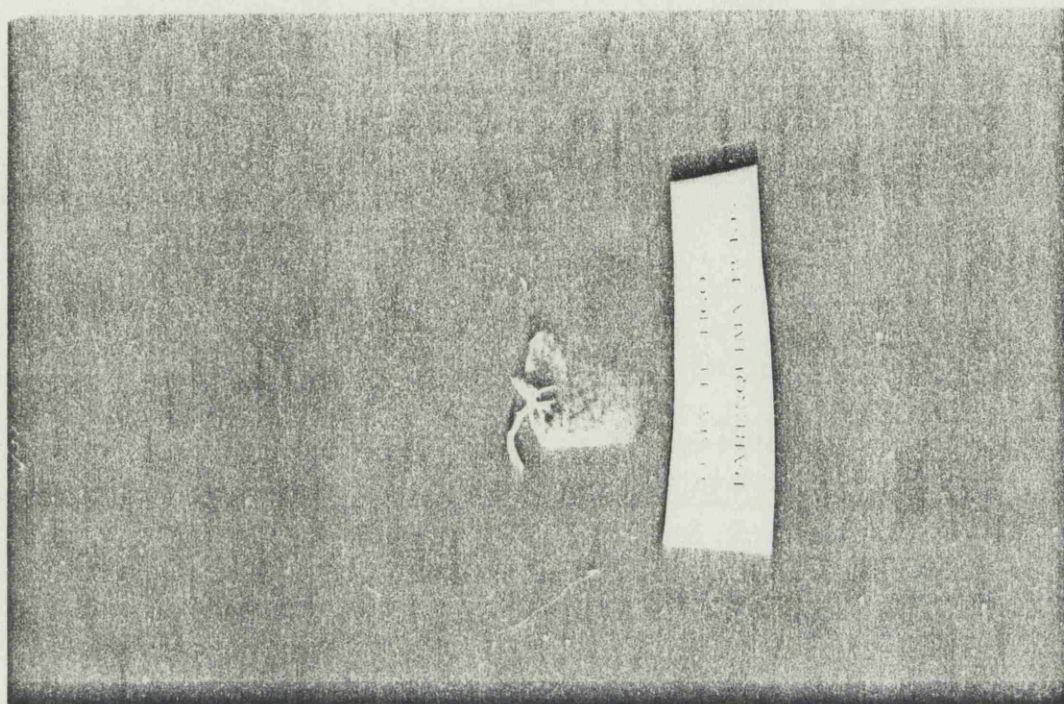
B

Fig. 56.- Detalle del desarrollo de una yema testigo injertada sobre parénquima irradiado a dosis de: A) 3 Krad. B) 6 Krad.





A



B

Fig. 57.- Detalle del desarrollo de una yema testigo injertada sobre parénquima irradiada a dosis de: A) 9 Krad. B) 12 Krad.

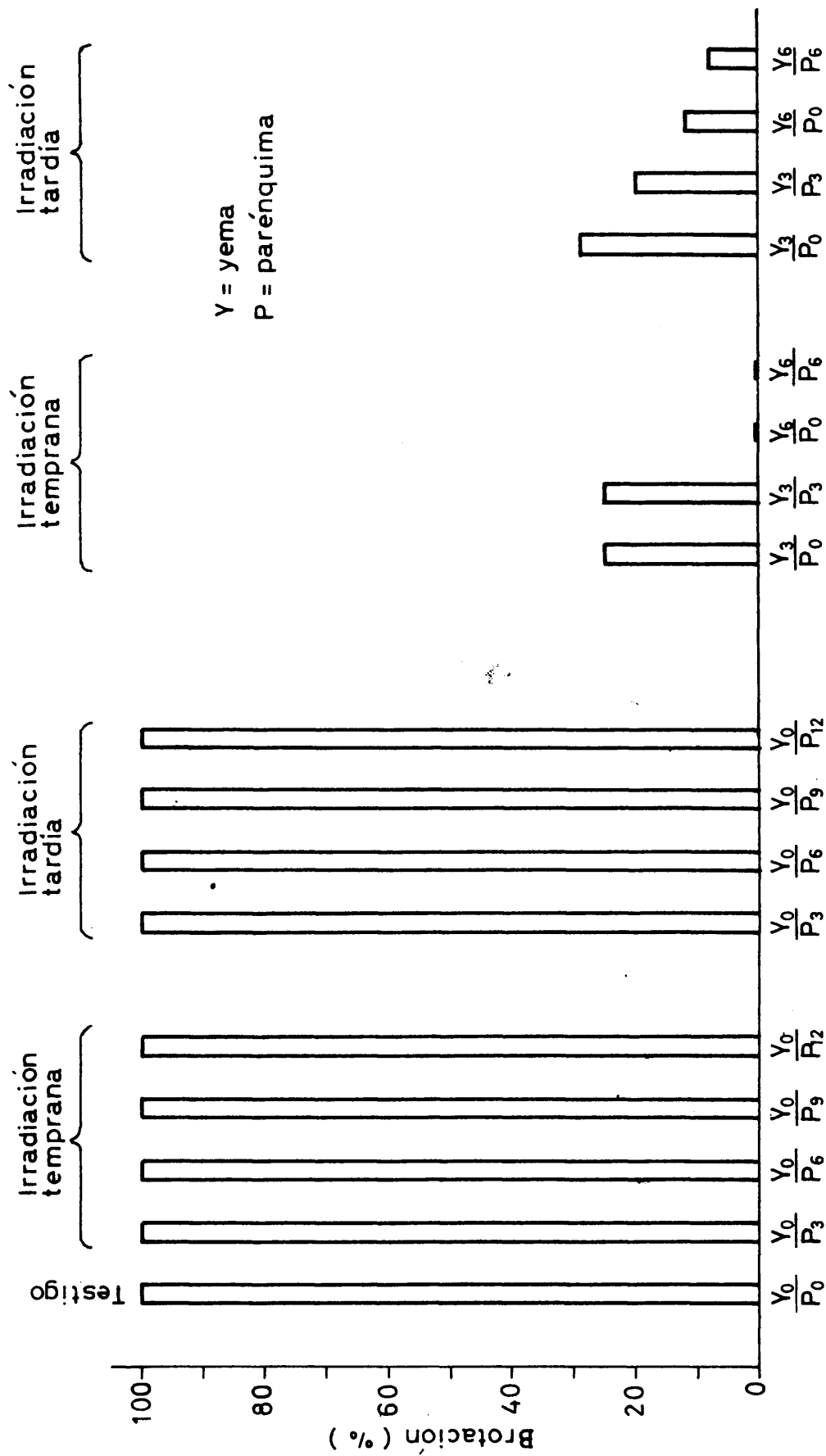


Fig. 58.- Diagrama comparativo de la brotación de los distintos tipos de injertos al cabo de 28 días de cultivo.

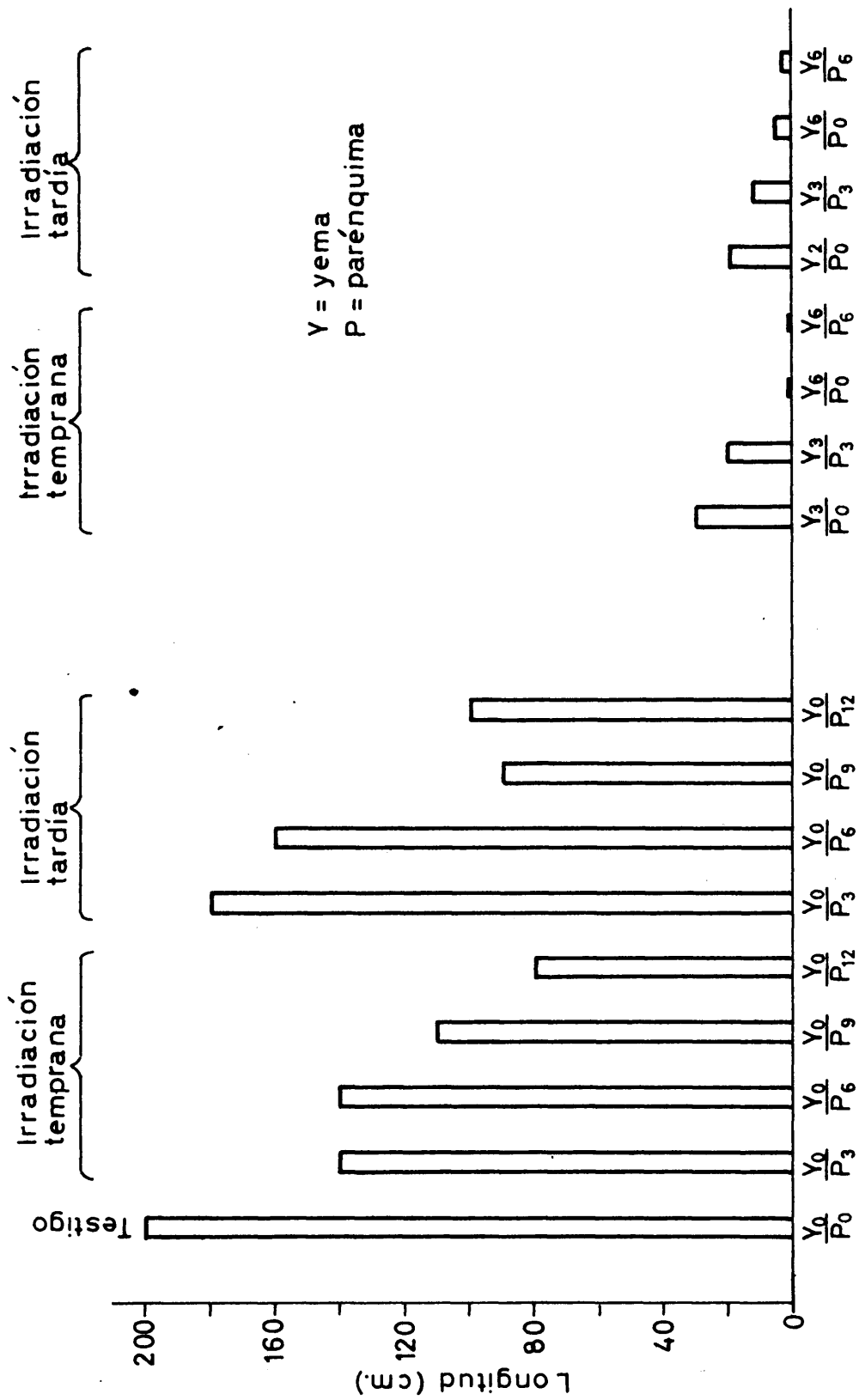


Fig. 59.- Diagrama comparativo de la longitud total alcanzada por los brotes de las yemas injertadas al cabo de 28 días de cultivo. Valores referidos a 100 injertos.



### 3.4. ESTUDIO COMPARATIVO DE LA INHIBICION PRODUCIDA POR CUATRO TRATAMIENTOS ANTIGERMINANTES

#### 3.4.1. Tubérculos completos

En el control de la brotación que se llevó desde Diciembre hasta Mayo, los tubérculos testigo empezaron a brotar normalmente en la segunda quincena del mes de Enero. Tanto las patatas refrigeradas como las tratadas con hidrazida maleica, con IPC-CIPC o las irradiadas, no experimentaron síntomas de brotación normal.

Al cabo de tres meses de almacenamiento los tubérculos testigo habían brotado todos abundantemente (figs. 60 y 61) mientras que en los tubérculos tratados no se observó brotación. En los tubérculos refrigerados se podían apreciar los inicios de los brotes con una longitud de 2 a 4 mm (fig. 62). En los tubérculos tratados con hidrazida maleica los inicios de los brotes estaban muy engrosados y ramificados si bien no habían experimentado alargamiento (fig. 63). En los tubérculos tratados con IPC-CIPC así como en los irradiados, no se observó ningún síntoma de desarrollo vegetativo de las yemas (figs. 64 y 65). En esta misma línea siguieron comportándose todos los tubérculos hasta los cinco meses en que finalizó el período de observación.

### 3.4.2. Desarrollo de yemas cultivadas "in vitro"

Con objeto de observar las diferencias en el desarrollo de las yemas procedentes de los tubérculos de los distintos tratamientos durante el tiempo que éstos estuvieron almacenados, se realizaron tres siembras de yemas sobre medio nutritivo Heller según el método descrito anteriormente.

Tanto las yemas procedentes de tubérculos testigo como las procedentes de tubérculos tratados con IPC-CIPC o de los refrigerados, tuvieron un desarrollo completamente normal a lo largo de las cuatro semanas que duró su cultivo (Tablas XXVII, XXVIII y XXIX). En la figura 66 se observa el desarrollo análogo de las yemas testigo y de las tratadas con IPC-CIPC.

Las yemas procedentes de los tubérculos del tratamiento con hidrazida maleica experimentaron un desarrollo anormal en el que se produjeron tallos muy ramificados, engrosados y de escasa longitud (Tabla XXX). En la figura 67 se observa, en detalle, el desarrollo de estas yemas.

Las yemas procedentes de tubérculos irradiados a dosis de 9 Krad, no experimentaron brotación alguna permaneciendo durante las cuatro semanas de cultivo en el mismo estado (fig. 68).

En la figura 69 se representa la comparación de las longitudes finales alcanzadas por las yemas de los distintos tratamientos en las tres épocas de siembra.

TABLA XXVII .- Evolución semanal del desarrollo de yemas procedentes de tú-  
bérculos testigo sembradas en tres épocas diferentes sobre me-  
dio Heller. Observaciones realizadas en 24 tubos.

OBSERVACIONES	Enero					Febrero			Marzo		
	7	14	21	28	7	14	21	28	7	14	21
Brotación (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Brotos por yema brotada											
valor medio	1	1,3	1,7	1,7	1	1,4	1,6	2	1	1,6	1,8
c.v. (%)	-	29,3	29,6	25,4	-	32,5	31,4	28,9	-	28,3	32,8
Longitud total de los brotes de una yema											
valor medio (cm)	1,2	1,5	3,4	3,6	1,2	1,7	3	3,8	2,0	4,5	6,8
c.v. (%)	26,5	27,2	28,9	32,1	30,5	36,3	28,9	32,3	30,1	35,2	28,3
Número total de bro- tes relativo a 100	100	130	170	170	100	140	160	200	100	160	180
Longitud total de los brotes relativa a 100 (cm)	120	150	340	360	120	170	300	380	200	450	680

TABLA XXVIII .- Evolución semanal del desarrollo de yemas procedentes de tubérculos refrigerados sembradas, en tres épocas diferentes, sobre medio Heller. Observaciones realizadas en 24 tubos.

OBSERVACIONES	Enero				Febrero				Marzo		
	7	14	21	28	7	14	21	28	7	14	21
Brotación (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Brotos por yema brotada											
valor medio	1	1,2	1,8	2	1	1,7	2	2,5	1	1,5	1,9
c.v. (%)	-	26,7	28,5	27,3	-	30,2	32,1	31,2	-	29,8	27,6
Longitud total de los brotes de una yema											
valor medio (cm)	1,0	1,7	3,6	3,9	2,1	2,7	3,8	4,2	1,9	4,0	7,5
c.v. (%)	22,3	26,5	28,3	29,2	30,5	30,7	28,2	27,3	30,2	41,3	37,3
Número total de brotes relativo a 100	100	120	180	200	100	170	200	250	100	150	190
Longitud total de los brotes relativa a 100 (cm)	100	170	360	390	210	270	380	420	190	400	750
Coefficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud total de los brotes testigo (%)	83,3	113,3	105,8	108,3	175,0	158,8	126,7	110,5	95	88,8	110,3

TABLA XXIX .- Evolución semanal del desarrollo de yemas procedentes de tubérculos tratados con IPC-CIPC, sembradas en tres épocas diferentes sobre medio Heller. Observaciones realizadas en 24 tubos.

OBSERVACIONES	Enero				Febrero				Marzo		
	7	14	21	28	7	14	21	28	7	14	21
Brotación (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Brotes por yema brotada											
valor medio	1	1,5	1,7	2	1,3	1,6	1,7	2,5	1,2	1,6	2
c.v. (%)	-	26,5	28,7	32,5	30,0	28,7	26,2	28,4	26,2	30,1	32,2
Longitud total de los brotes de una yema											
valor medio (cm)	1	1,4	3,2	3,5	1,2	1,5	3,3	3,7	1,8	4,3	6,5
c.v. (%)	27,3	32,1	28,9	27,3	26,5	24,3	23,2	25,6	25,3	30,1	32,5
Número total de brotes relativo a 100	100	150	170	200	130	160	170	250	120	160	200
Longitud total de los brotes relativa a 100 (cm)	100	140	320	350	120	150	330	370	180	430	650
Coefficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud total de los brotes testigo (%)	83,3	93,3	94,1	97,2	100	88,2	110	97,4	90	95,5	95,6

TABLA XXX .- Evolución semanal del desarrollo de yemas procedentes de tubérculos del tratamiento con hidracida maleica sembradas, en tres épocas diferentes, sobre medio Heller. Observaciones realizadas en 24 tubos.

OBSERVACIONES	Enero				Febrero				Marzo		
	7	14	21	28	7	14	21	28	7	14	21
Brotación (%)	91,7	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Brotos por yema brotada											
valor medio	1	1,7	2,5	3	1,5	2	2,8	3,3	1,5	2,2	2,8
c.v. (%)	-	32,5	34,3	31,8	25,2	26,7	28,3	27,4	29,5	27,6	32,3
Longitud total de los brotes de una yema											
valor medio (cm)	0,3	0,7	1,2	1,5	0,5	1,0	1,7	2	1,0	1,3	1,6
c.v. (%)	30,5	32,1	33,0	35,2	26,3	28,3	27,2	29,4	25,3	26,2	28,1
Número total de brotes relativo a 100	92	170	250	300	150	200	280	330	150	220	280
Longitud total de los brotes relativa a 100 (cm)	27,5	70	120	150	50	100	170	200	100	130	160
Coeficiente de actividad vegetativa relativa a la longitud total de los brotes testigo (%)	22,9	46,7	35,3	41,7	41,7	58,8	56,7	52,6	50	28,9	23,5

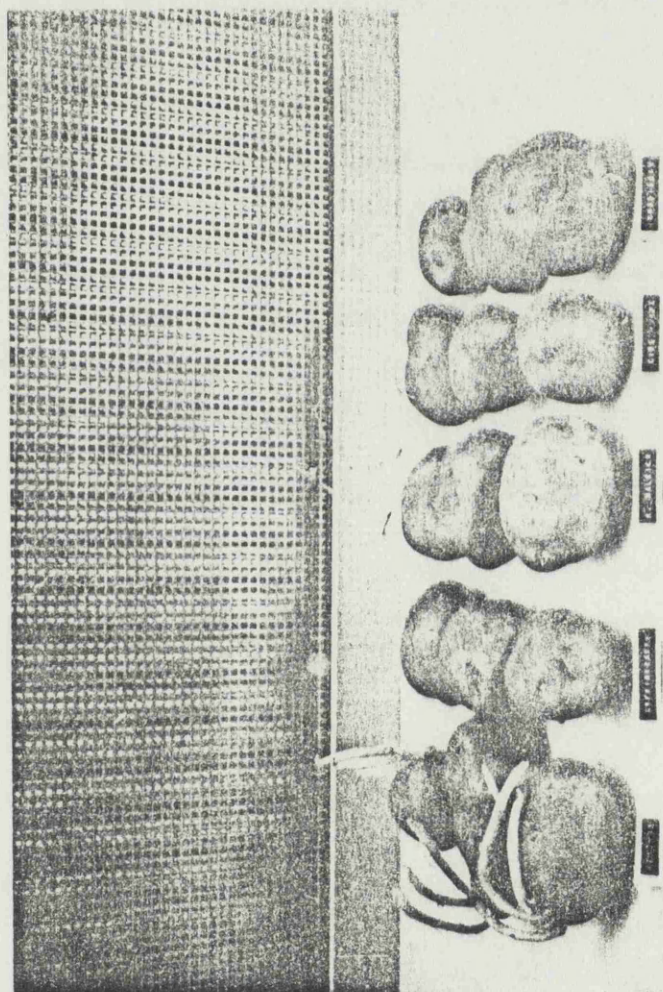


Fig. 60.- Estado comparativo en que se encontraban los tubérculos testigo, refrigerados, tratados con MH, con IPC-CIPC e irradiados, a los tres meses de su almacenamiento.

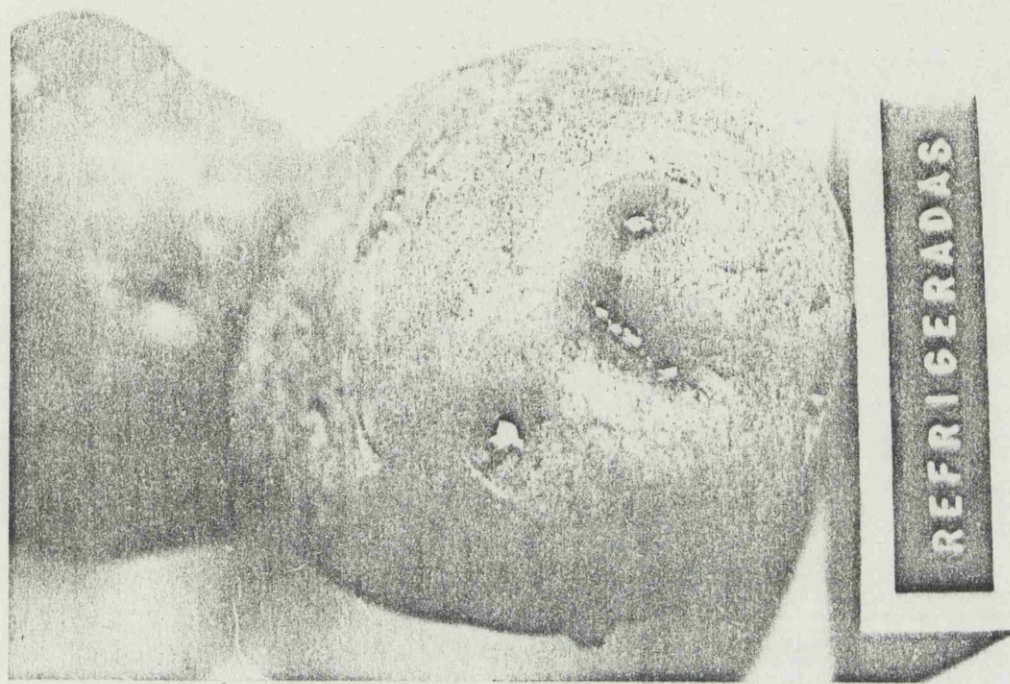


Fig. 61.- Estado de los tubérculos testigo a los tres meses de su almacenamiento.



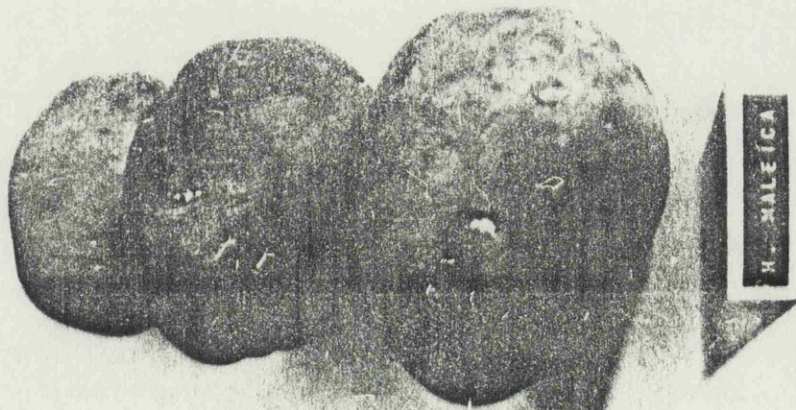


A

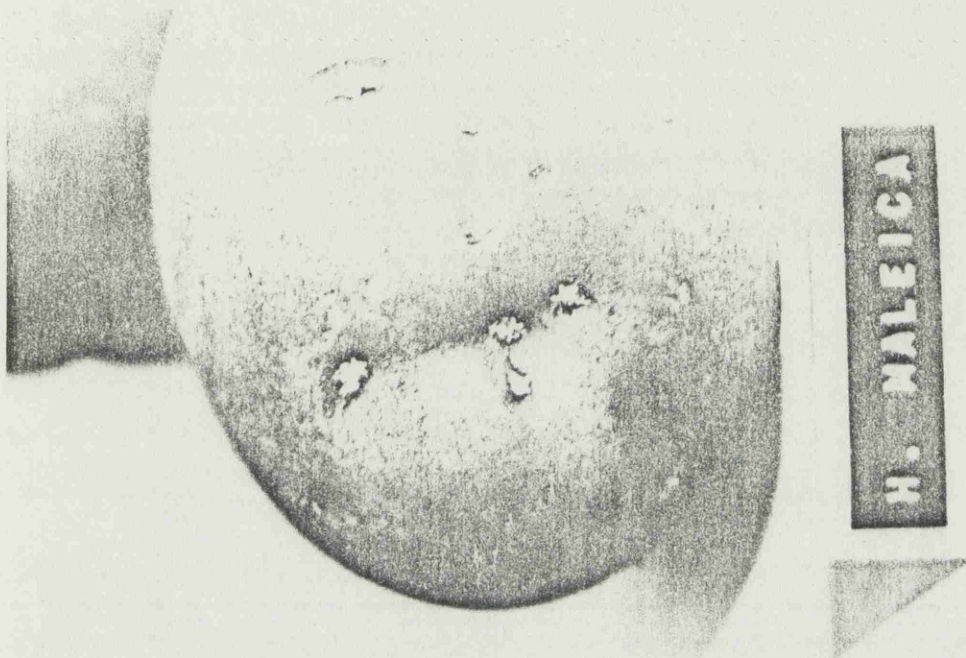


B

Fig. 62.- A) Estado de los tubérculos refrigerados a los tres meses de su almacenamiento. B) Detalle de las yemas.



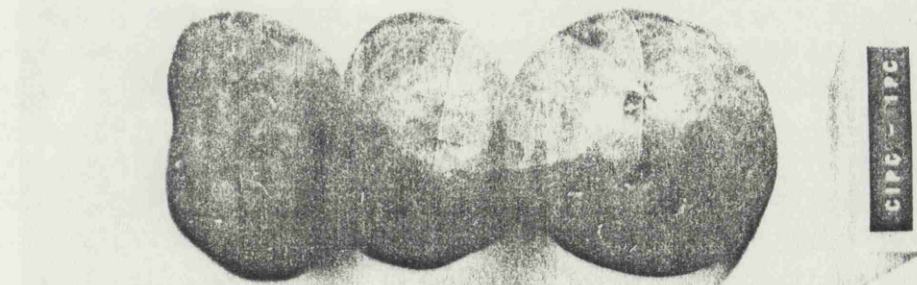
A



B

Fig. 63.- A) Estado de los tubérculos tratados con M H a los tres meses de su almacenamiento. B) Detalle de las yemas.





A



B

Fig. 64.- A) Estado de los tubérculos tratados con IPC-CIPC a los tres meses de su almacenamiento. B) Detalle de las yemas.



A



B

Fig. 65.- A) Estado de los tubérculos irradiados a dosis de 9 Krad, tres meses después de su almacenamiento. B) Detalle de las yemas.



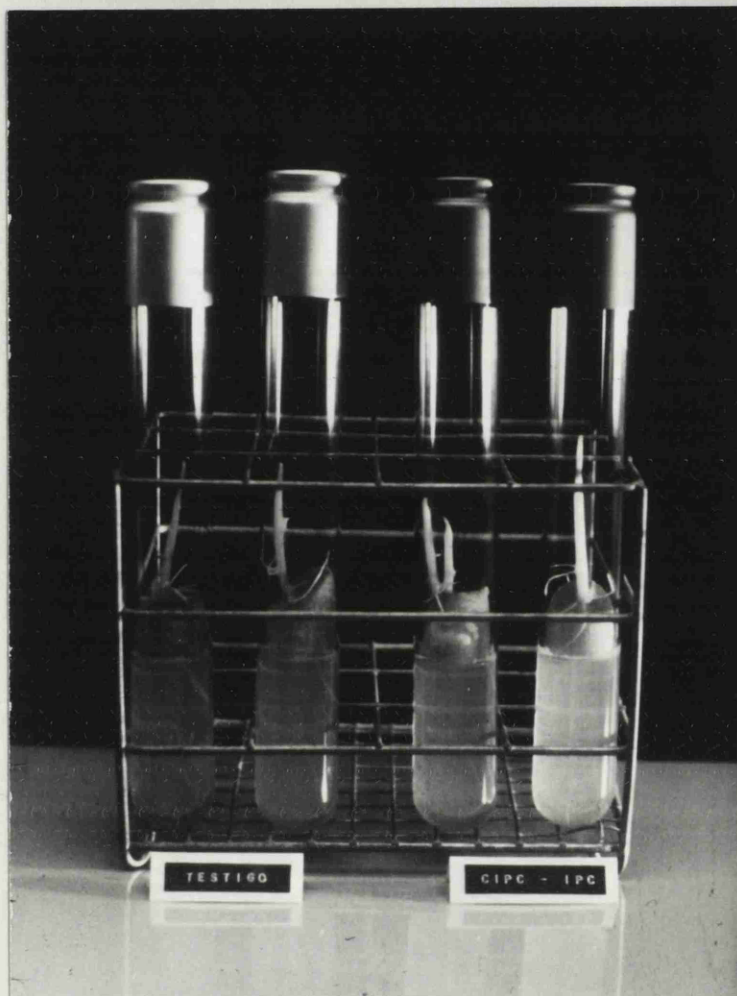


Fig. 66.- Desarrollo de las yemas testigo y tratadas con IPC-CIPC, cultivadas en medio Heller.

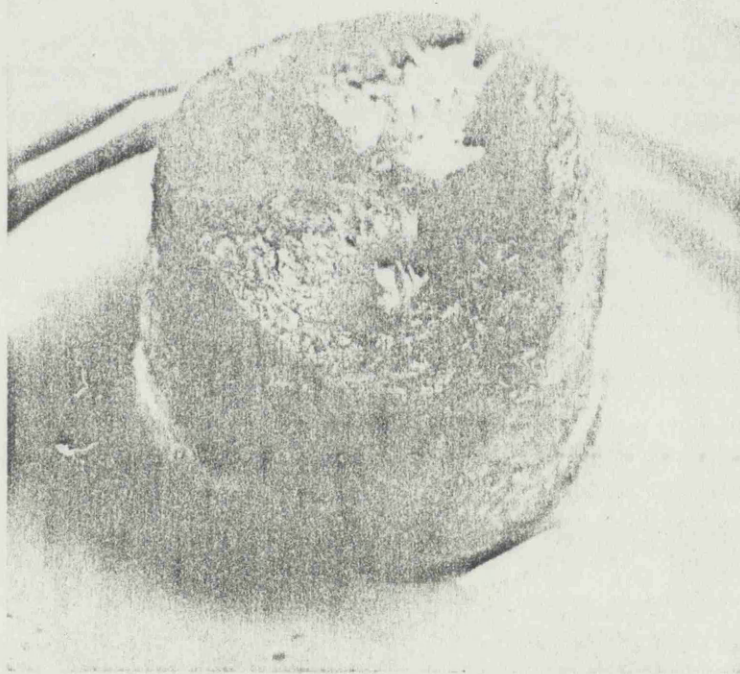


Fig. 67.- Detalle del desarrollo de una yema, procedente de un tubérculo tratado con M. H., y cultivada en medio Heller.

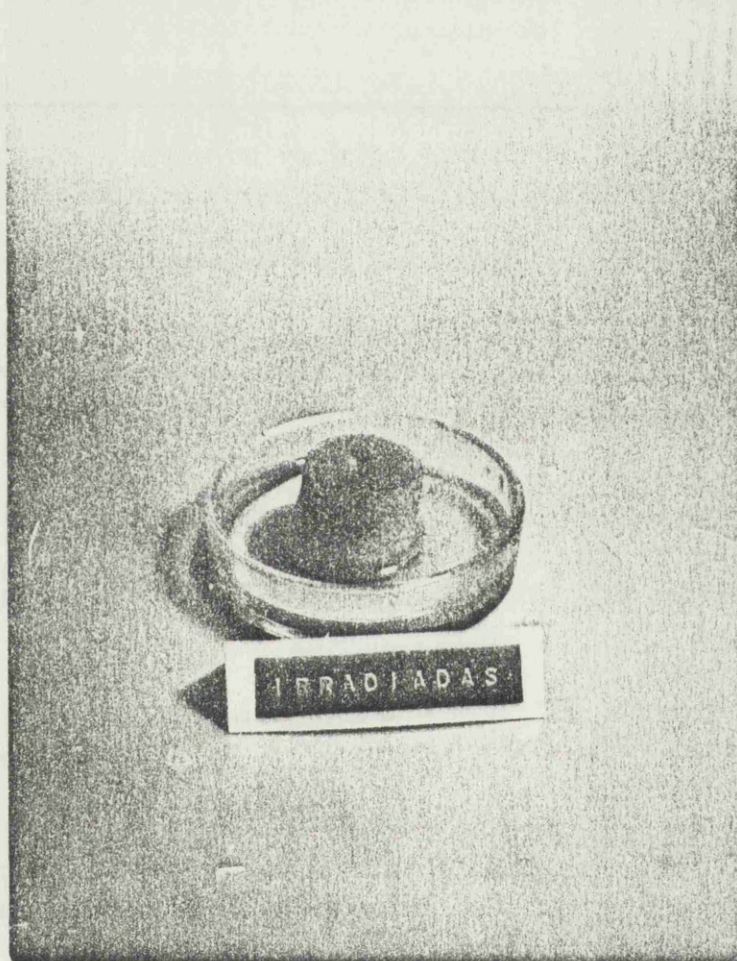


Fig. 68.- Detalle de una yema procedente de tubérculos irradiados (dosis: 9 Krad), cultivada en medio Heller.

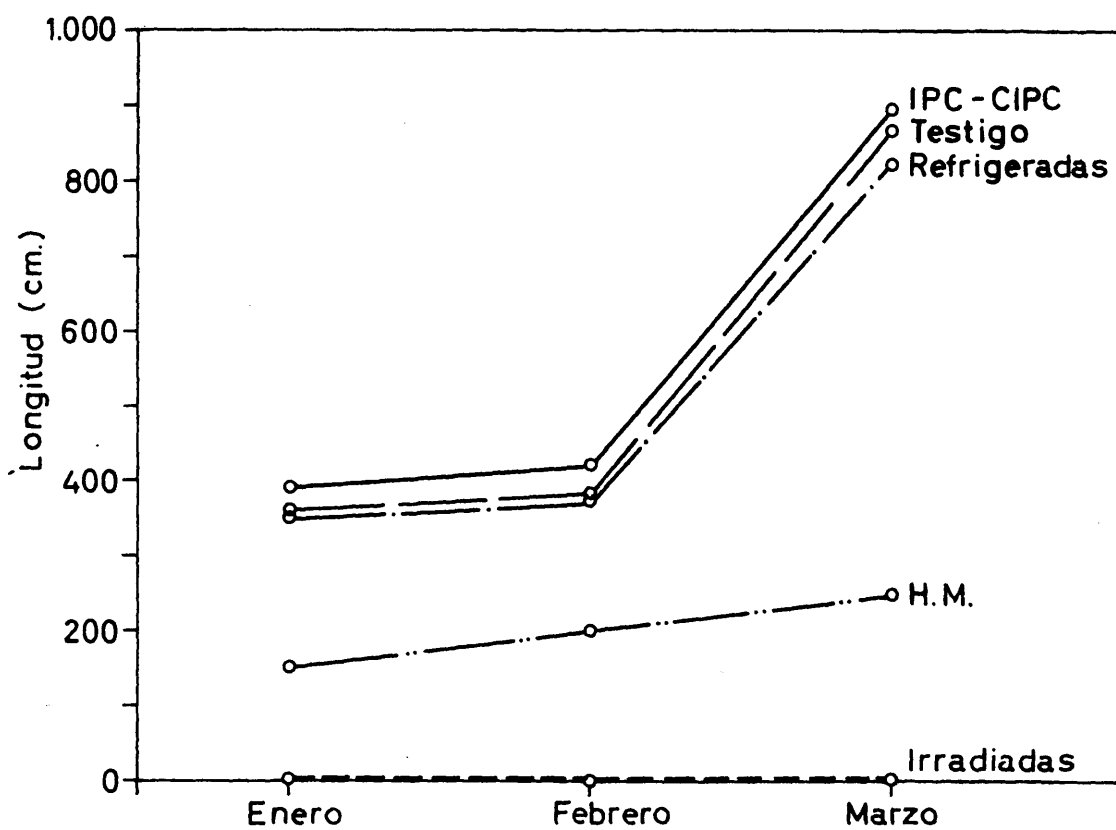


Fig. 69.- Diagrama comparativo de las longitudes finales alcanzadas por los brotes de las yemas procedentes de los tubérculos testigo y tratados. Valores relativos al desarrollo de 100 yemas durante 28 días en tres épocas de siembra.



#### 4. DISCUSION DE RESULTADOS

## 4. DISCUSION DE RESULTADOS

### 4.1. EVOLUCION DE LAS YEMAS EN EL TUBERCULO

#### 4.1.1. Examen macroscópico

El desarrollo de las yemas en los tubérculos testigo respondió al esperado en condiciones normales. Los tubérculos después de la recolección estuvieron un cierto tiempo sin brotar debido a su imposibilidad fisiológica. Después de transcurridos unos dos meses empezaron a hacerlo, pero, la brotación fué escalonada debido sin duda a la heterogeneidad natural del material con el que se trabajó, aunque todos los tubérculos procedían de la misma cosecha y pertenecían a la misma variedad. Desde el inicio de la brotación hasta que todos los tubérculos brotaron, transcurrieron casi dos meses. Los valores medios, tanto del número de brotes por tubérculo como de su longitud total, estuvieron afectados de la variabilidad propia de este tipo de material biológico en el que el coeficiente de variabilidad (cv) oscila alrededor del 30%.

Precisamente, debido al escalonamiento de la brotación de los tubérculos, se han tomado dos tipos de valores para estimar su evolución. Estos dos valores son: el número total de brotes referido a 100 tubérculos y la longitud total de los mismos. De esta manera, se hace intervenir a la vez en un sólo índice, el número de tubérculos brotados (% brotación) y el número medio de brotes por tubérculo brotado o la longitud de los mismos.

En los tubérculos irradiados se observó siempre una proporcionalidad entre el grado de inhibición producido y la dosis de radiación absorbida. Tal como había sido ya constatado por diversos autores (Mathur 1963, Dharkar 1966, Dharkar y Sreenivasan 1966, Matsuyama 1966, Matsuyama 1973, etc...) también se vió que, a igualdad de dosis, la brotación variaba según la época de efectuar el tratamiento.

Teniendo en cuenta que la longitud total de los brotes de un tubérculo es una expresión simplificada del grado de actividad vegetativa desarrollado, se definió para los tubérculos irradiados el coeficiente de actividad vegetativa (c.a.v.) referido a la longitud total de los brotes de 100 tubérculos testigo. La variación de este coeficiente a lo largo del tiempo de observación, se refleja en la figura 70 y sirve para ayudar a comprender el efecto producido por la radiación. Como se observa en esta figura, la evolución de la brotación en los tubérculos irradiados en Diciembre a dosis de 3 Krad es paralela a la de los testigo, aunque la actividad vegetativa osciló alrededor del 35%. A medida que transcurrió el tiempo, el c.a.v. fué decreciendo ligeramente debido a la imposibilidad de seguir el ritmo de crecimiento de los testigo. Los tubérculos irradiados en Enero con esta misma dosis, sufrieron un retraso considerable en el inicio de la brotación con respecto al testigo, si bien fueron recuperándose a lo largo del tiempo. Esto se refleja en un ascenso paulatino del c.a.v. que llegó a alcanzar, al final del período de observación, un valor análogo al de los irradiados en Diciembre.

El retraso fué sin duda debido a que el tiempo que medió entre la irradiación y el inicio normal de la brotación, fué demasiado breve como para que se pudiera reparar el daño producido.

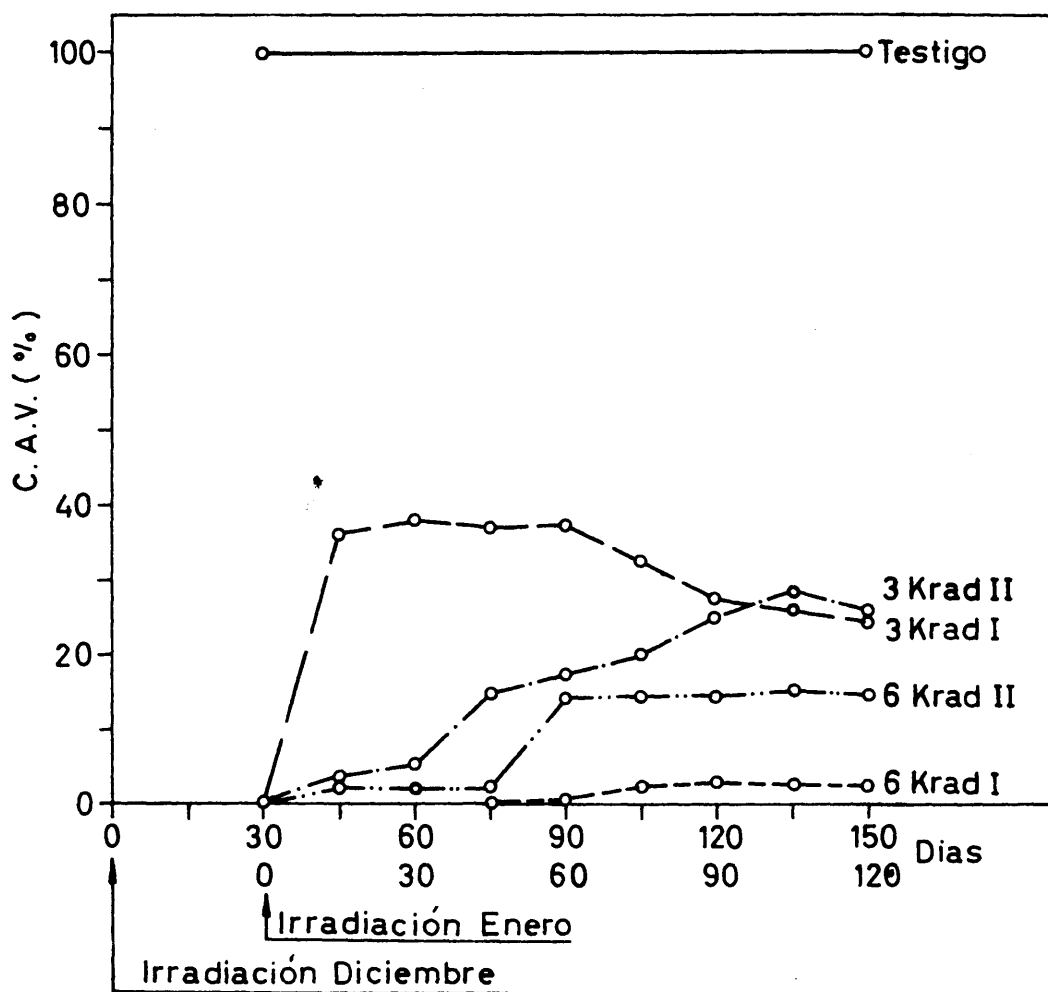


Fig. 70.- Diagrama comparativo de las distintas c.a.v. (coeficientes de actividad vegetativa) en los tubérculos testigo y tratados. I irradiación de Enero; II irradiación de Diciembre.

En los tubérculos irradiados en Diciembre, durante el tiempo de reposo y hasta el inicio de la brotación, se pudo reparar parcialmente este daño de manera que, cuando se inició la brotación, respondieron de un modo más acorde con el testigo.

En los tubérculos que recibieron 6 Krad en Diciembre, se observó una inhibición muy fuerte. Su c.a.v. permaneció prácticamente constante alrededor del 2,5%. En los irradiados en Enero a esta misma dosis, una vez superado el retraso inicial, se produjo un ascenso en su c.a.v. que permaneció constante, alrededor del 15% durante los dos últimos meses de la observación. La explicación al hecho de que estos tubérculos presenten un c.a.v. mayor que los de la irradiación temprana, a la misma dosis, radica posiblemente en que cuando en Enero fueron irradiados, ya tenían realizadas un cierto número de divisiones caulinares y esta dosis fué suficiente para impedir la división celular, pero no el alargamiento.

Las dosis de 9 y 12 Krad aplicadas tanto temprana como tardíamente, no produjeron síntoma externo de brotación, lo cual fué sin duda debido a que se inhibió además de la división el alargamiento celular.

#### 4.1.2. Estudio histológico

El resultado de la observación histológica de las yemas irradiadas demuestra claramente que el efecto de la radiación depende del estado de desarrollo en que se encontraran en el momento de ser tratadas y de la dosis recibida. Como norma general se observó que, cuanto más avanzado era el desarrollo

del brote, mayor era su radiosensibilidad lo cual está de acuerdo con los trabajos realizados en diversas especies por Donini 1967, Pratt 1967, Sparrow y colaboradores 1968, Bostrack y Sparrow 1969, Sekiguchi y colaboradores 1971 etc., los cuales encontraron que las yemas en crecimiento activo, eran más radiosensibles que las que permanecían aún en reposo.

En nuestras observaciones comprobamos la distinta radiosensibilidad de las diferentes partes del meristemo apical. La parte más sensible resultó ser la túnica y dentro de ésta, la capa interna fué la que antes se destruyó. Esta observación coincide con lo constatado en vid, manzano y melocotonero (Pratt 1959; Pratt y colaboradores 1959; Lapins y colaboradores 1969; Lapins y Hough 1970), en tomate (Kuehnert 1962) en *Coleus blumei* Benth (Crockett 1968), en *Antirrhinum majus* L. (Sekiguchi y colaboradores 1971), en *Capsicum annuum* L. (Iqbal 1969, 1970 y 1972) etc... El corpus resultó ser un poco más resistente que la túnica y dentro de éste, la zona de los flancos fué la menos sensible. De todos los tejidos meristemáticos del ápice, el procámbium fué con bastante diferencia, el más radiorresistente.

Las células de la médula y de los primordios foliares fueron muy sensibles, mostrando una fuerte tendencia a la vacuolización. Esto explica el que en ocasiones en que el meristemo apical había sido seriamente dañado, se pudo no obstante apreciar un alargamiento del brote y de los primordios foliares.

El hecho de que los ápices de las yemas más desarrolladas sean los más sensibles, no implica forzosamente la destrucción total del brote por efecto de la irradiación ya que las yemas axilares, que normalmente permanecen en un estado muy retra-

sado debido a la inhibición apical, si resultan poco afectadas por la irradiación, pueden dar origen al nacimiento de un brote que sustituiría al anterior aunque su desarrollo se vería retrasado considerablemente con respecto a éste (fig. 71). Bostrack y Sparrow (1969) en *Pinus rígida* Mill., observaron también que al suprimir la dominancia apical debido a las lesiones producidas por la radiación, proliferaban las yemas axilares como resultado de su mayor radiorresistencia.

Con respecto a la dosis se vió que en las yemas apicales irradiadas con 9 y 12 Krad, se produjo siempre una destrucción total del ápice, mientras que, en las de 3 y 6 Krad, aunque se produjeron lesiones de importancia variable, siempre hubo alguna parte que quedó menos afectada.

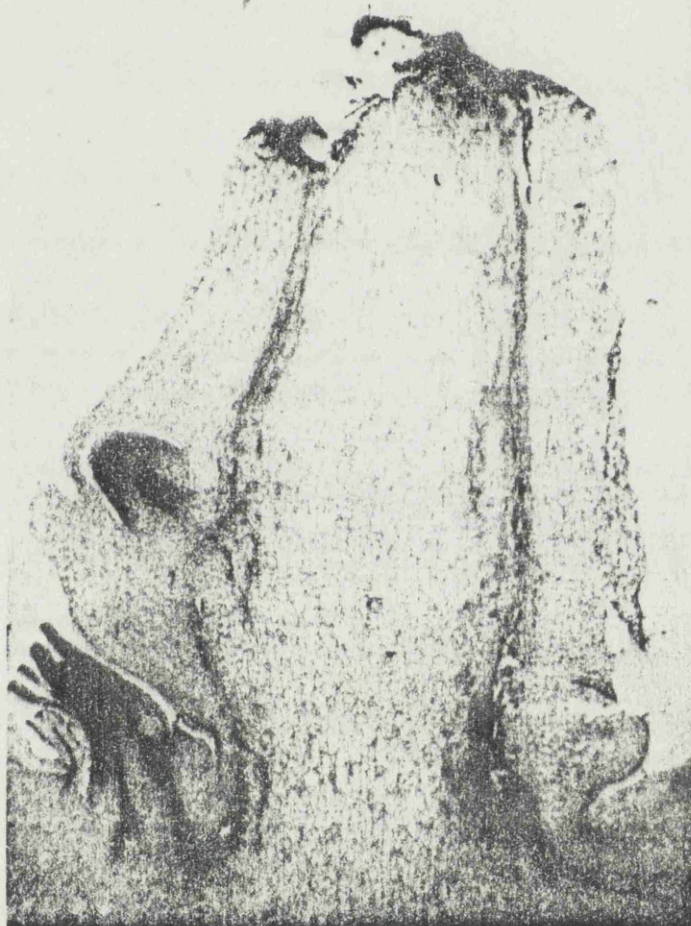


Fig. 71.- Yema irradiada, a dosis de 3 Krad, en un estado avanzado de desarrollo. Obsérvese el ápice destruido y una axilar emergiendo.



#### 4.2. DESARROLLO DE YEMAS AISLADAS CULTIVADAS "IN VITRO"

La estimulación que se produce en las yemas de los tubérculos como respuesta a los cortes, les hace salir de su estado de reposo, induciéndolas a brotar. Las heridas que se efectúan en los alrededores de las yemas al separarlas del tubérculo para proceder a su siembra, producen el efecto estimulante indicado anteriormente y favorecen el rápido desarrollo de las yemas al ser cultivadas "in vitro". Por medio de esta técnica se puede estudiar, en un corto período de tiempo, las características del desarrollo del brote y a partir de la configuración que presente deducir el tipo de daño inferido por la radiación. Otra ventaja que presenta esta técnica, es la posibilidad de añadir al medio sustancias fitoregulatoras, tales como ácido giberélico y cinetina, que ayudan a patentizar más el efecto producido por las radiaciones.

En cuanto a la brotación se observó que, mientras que las yemas testigo lo hacían en un cien por cien, las irradiadas a dosis de 3 y 6 Krad lo hicieron en menor cuantía y quedaron totalmente inhibidas las de 9 y 12 Krad.

Entre las irradiadas a 3 y 6 Krad, se observó como era de esperar una mayor inhibición en las que recibieron 6 Krad.

Con respecto a la época de irradiación, siempre se notó una mayor brotación total en las yemas irradiadas en Enero que en las irradiadas en Diciembre. Sin embargo en la longitud se observaron efectos diferentes en las de 3 Krad que en las de 6. Las de 3 Krad irradiadas tardíamente alcanzaron una menor longitud que las irradiadas en Diciembre, mientras que en las de 6 Krad ocurrió lo

contrario. La explicación de este fenómeno debe radicar en el hecho de que en las yemas irradiadas en Enero, existía ya un cierto número de divisiones realizadas en el momento de efectuar la irradiación y como las dosis de 3 y 6 Krad fueron suficientes para impedir las mitosis pero no lo fueron para evitar el alargamiento celular, se pudo producir un cierto número de brotaciones como consecuencia del alargamiento de las células divididas previamente. Como las yemas irradiadas en Diciembre no tenían efectuadas tantas divisiones, brotaron en menor cuantía ya que las únicas que lo pudieron hacer fueron las que habían sido capaces de reparar el daño sufrido por efecto de la irradiación.

Con respecto a la longitud, la explicación del diferente comportamiento de las yemas de 3 y 6 Krad, según la época de irradiación, radica en la mayor posibilidad de regeneración de las yemas irradiadas a 3 Krad en Diciembre. Esto dió como consecuencia brotes procedentes de divisiones celulares y alargamientos posteriores, mientras que en las irradiadas en Enero a esta misma dosis, debido a la mayor sensibilidad de sus meristemos, predominaron los alargamientos de las células formadas anteriormente sobre las divisiones. En las de 6 Krad por el contrario, tanto las irradiadas en Diciembre como las irradiadas en Enero fueron muy poco capaces de regenerar sus meristemos debido al fuerte daño sufrido y únicamente se notaron indicios de brotación en las irradiadas en Enero como consecuencia del alargamiento de las células formadas antes de la irradiación. Por este motivo la longitud alcanzada por estos brotes fué semejante, aunque un poco inferior, a la alcanzada por las yemas irradiadas a 3 Krad, también en Enero.

Otro efecto que se observó en las yemas irradiadas que bro-

taron, fué el mayor número de brotes por yema que en las testigo. Esto se debió sin duda a la desaparición de la dominancia apical por efecto de la destrucción del ápice y confirma las observaciones anteriormente citadas en el estudio histológico.

Mediante el empleo de fitorreguladores se pudo patentizar mejor el efecto de la radiación sobre la brotación de las yemas. El ácido giberélico exaltó la longitud y el número de brotes y la cinetina favoreció la brotación aunque produjo acortamiento en los tallos.

Comparando las c.a.v. de las yemas irradiadas en los distintos tratamientos se ve que las mayores diferencias entre las yemas testigo y las irradiadas se observaron en el tratamiento con ácido giberélico (dieron el c.a.v. más pequeño) lo cual puede ser útil para el test de identificación ya que exaltaría las diferencias entre la capacidad de brotación de las yemas.

Como confirmación de lo observado en el estudio histológico se vió que por efecto de la inhibición apical se desarrollaban los primordios foliares. Este desarrollo fué característico según la época en que se verificó la irradiación; las irradiadas en época temprana desarrollaron primordios cortos y abiertos desde su base, mientras que en las irradiadas en época tardía fueron más largos y formando una roseta cerrada y compacta en su base como corresponde a la existencia de divisiones caulinarias en el momento de efectuar la irradiación. El ácido giberélico y la cinetina exaltaron la emergencia de los primordios foliares incluso en las yemas que habían recibido dosis de 9 Krad en Diciembre y hasta en las de 12 Krad irradiadas en Enero.

#### 4.3. DESARROLLO DE LAS YEMAS INJERTADAS

Entre las hipótesis realizadas para explicar el efecto inhibidor de la radiación sobre la brotación de los tubérculos, destaca la formulada por Michiels (1967) que en su tesis doctoral, dirigida por el Dr. Sandret del Instituto Appert de Paris, achacaba casi todo el efecto inhibidor de las radiaciones a la producción de azúcares reductores en el parénquima en mayor cuantía de lo normal. Según estos autores, la excesiva concentración de estos azúcares hacía que las yemas no brotaran.

Con objeto de comprobar hasta qué punto era importante la influencia del parénquima irradiado sobre el desarrollo de las yemas, se planteó la experiencia de los injertos en la que se estudió la influencia del parénquima irradiado sobre yemas testigo y la brotación de las yemas irradiadas sobre parénquima normal. También se estudió el efecto intrínseco del injerto sobre el desarrollo de las yemas.

Como resumen de las observaciones efectuadas se puede afirmar que el parénquima irradiado no ejerce ninguna influencia sobre la brotación de las yemas testigo ya que, incluso cuando éstas fueron injertadas sobre parénquima que había recibido 12 Krad se produjo un 100% de brotación. La longitud sin embargo si que se vió ligeramente afectada, así como la dirección de salida del brote. En la longitud, las yemas que se injertaron sobre parénquima irradiado crecieron algo menos que las que lo hicieron sobre parénquima testigo, llegando esta inhibición de la longitud, en el caso más desfavorable, a un 60% (yema testigo injertada sobre parénquima de 12 Krad procedente de la irradiación temprana). El parénquima que provenía de los tubérculos

irradiados en el mes de Enero (irradiación tardía), produjo menos inhibición en el alargamiento.

Aparte de la posible influencia de los azúcares reductores, a nuestro juicio, la influencia del parénquima irradiado sobre el alargamiento de la yema debe de estar relacionada con la presencia de sustancias estimulantes o inhibidoras de tipo fitohormonal. En la irradiación temprana se produce un retraso en todo el metabolismo del tubérculo y como consecuencia, en la desaparición del complejo B-inhibidor y en la aparición del ácido giberélico (Boo 1961); es por esta razón por la que probablemente las yemas testigo injertadas sobre parénquima irradiado no se alargaron tanto como cuando fueron injertadas sobre su propio parénquima.

En la irradiación tardía, que se efectuó cuando ya habría desaparecido naturalmente el complejo B-inhibidor (Hemberg 1958 y 1967 b; Hemberg y Orvelid 1967) y comenzarían a aparecer las giberelinas endógenas, el parénquima ejerció menos influencia sobre el acortamiento de los brotes.

Un efecto curioso observado en el desarrollo de las yemas testigo sobre parénquima irradiado fué la pérdida acusada de verticalidad del brote (figs. 56 y 57). Aunque es aventurado el dar una explicación a este hecho, en trabajos anteriores (García Torres 1973) se había observado que este tipo de brotación se producía cuando a las yemas se les añadía etileno (en forma de ethrel). Esto puede hacer pensar que en el parénquima irradiado se produce etileno, como ocurre prácticamente en todos los órganos vegetales al ser sometidos a una situación de stress, y habida cuenta de que el etileno interacciona antagónicamente con las giberelinas, se explicaría el acortamiento de las yemas testigo injertadas

sobre el parénquima irradiado; este acortamiento sería tanto mayor cuanto más elevada fuera la dosis de irradiación.

Como comprobación de que el efecto inhibitor de la brotación debido a las radiaciones se produce por el daño ocasionado en las yemas y no por el producido en el parénquima, en la figura 72 se observa el desarrollo de una yema testigo injertada sobre parénquima de 3 Krad; la yema injertada nació normalmente aunque con la inclinación antes indicada, pero de la superficie del parénquima porta-injerto se desarrolló una yema adventicia en la que se aprecia el desarrollo típico de los primordios foliares y la inhibición del brote, lo cual es característico de las yemas que habían recibido 3 Krad. Un caso inverso al anterior es el representado en la figura 73 que muestra el injerto de una yema de 9 Krad sobre parénquima testigo; la yema de 9 Krad permaneció completamente inhibida mientras que de un lateral del porta-injertos se desarrolló una yema adventicia que dió origen a un brote análogo a los observados en las yemas testigo.

Las yemas irradiadas injertadas sobre parénquima testigo respondieron de acuerdo con la dosis recibida y las injertadas sobre su propio parénquima lo hicieron de manera análoga a las anteriores pero con menor longitud según las consideraciones hechas anteriormente.

Por todo lo expuesto queda claro que el parénquima irradiado no influye sobre la brotación de las yemas aunque sí que lo hace sobre el alargamiento de éstas. También queda bien claro que el principal efecto de la radiación es el debido a la acción directa sobre el meristemo de la yema el cual queda dañado de tal forma que no puede continuar su desarrollo.

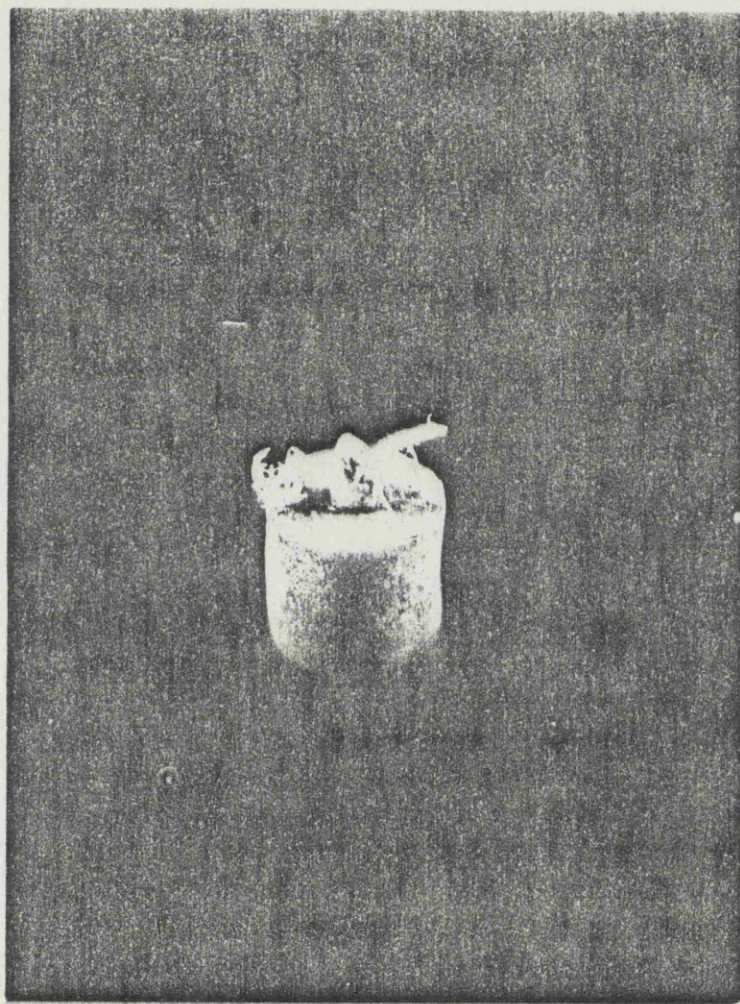


Fig. 72.- Yema testigo injertada sobre parénquima de 3 Krad. Obsérvese la yema testigo brotando normalmente mientras que una adventicia del parénquima de 3 Krad desarrolla únicamente los primordios foliares.



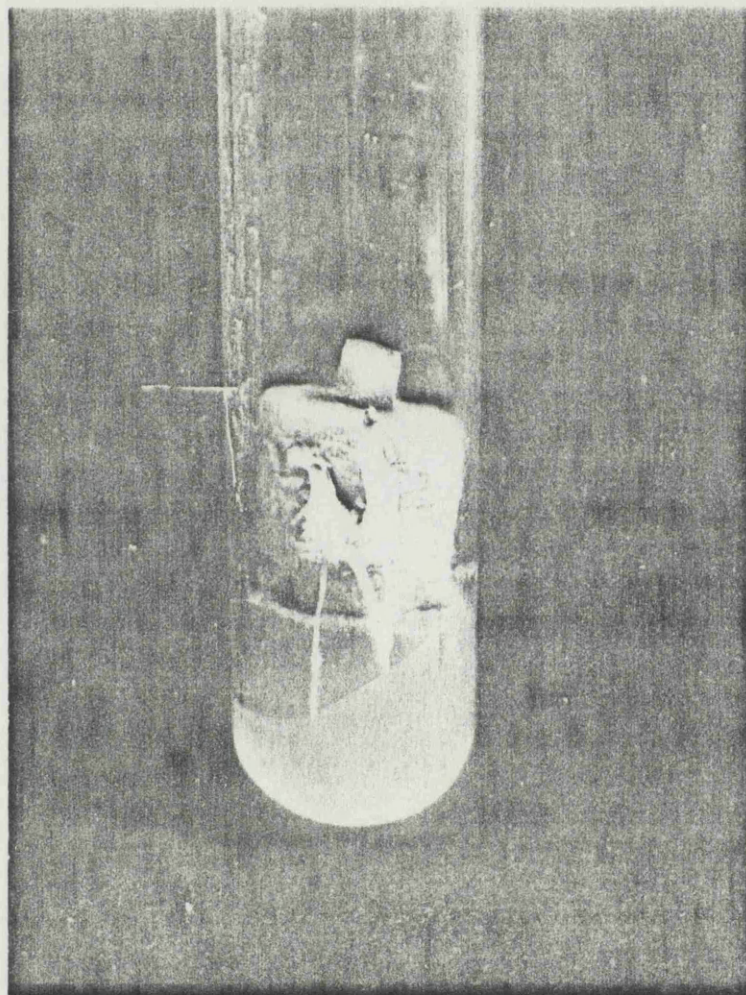


Fig. 73.- Yema irradiada, a dosis de 9 Krad, injertada sobre parénquima testigo. Obsérvese el desarrollo de una yema adventicia en el parénquima testigo, mientras que la yema irradiada no presentó síntomas de brotación alguna.



#### 4.4. INTERPRETACION DEL EFECTO PRODUCIDO POR LA RADIACION SOBRE LA BROTACION DE LOS TUBERCULOS

A la vista de los resultados obtenidos y comentados anteriormente, se pueden explicar con facilidad algunos de los efectos producidos en los tubérculos irradiados.

Evidentemente si la dosis es muy elevada, la brotación se inhibe totalmente sin duda por los múltiples efectos acaecidos en los diversos sistemas que integran el tubérculo.

Los casos más interesantes de explicación surgen cuando la dosis es baja o rayando con la mínima requerida para la inhibición.

Un aspecto interesante de destacar es también el estado de las yemas del tubérculo en el momento de efectuar la irradiación. Con respecto a esto último se ha confirmado que las yemas más sensibles a la radiación son las más desarrolladas. Este hecho no implica sin embargo que los tubérculos que se encuentran en un estado avanzado de evolución necesiten menos dosis para ser inhibidos. Ya se apuntó anteriormente que hay diversos autores que dicen, por el contrario, que si la irradiación se realiza en época tardía, se requieren dosis más elevadas que cuando se realiza al poco tiempo de la recolección. A este hecho aparentemente anómalo, se le puede dar la siguiente explicación:

En primer lugar hay que tener en cuenta que a dosis no muy altas se impide la división pero no el alargamiento celular. Si la irradiación se efectúa cuando hay ya realizadas un número considerable de divisiones, aunque no se produzcan nuevas mi-

tos, se produciría una brotación aparente, aunque de tallos truncados, por efecto del alargamiento de las células existentes y para el observador no advertido previamente representaría un tubérculo brotado.

La segunda interpretación procede de la observación histológica. Siempre que se ha irradiado una yema desarrollada se ha podido observar la destrucción de su ápice. Sin embargo, en un brote desarrollado hay numerosas yemas laterales que permanecen inhibidas por la dominancia apical y que están en un estado muy retrasado. Estas yemas son mucho menos sensibles que la apical y por tanto, al desaparecer la dominancia, se pueden desarrollar siempre que no hayan sido dañadas letalmente. La falta de una dominancia clara desde el principio hace que en lugar de uno, en general, surjan varios tallos aunque mucho más retrasados con respecto a los testigos. También puede ocurrir que emerja un tallo solo, pero si se observa con detenimiento su origen se comprobaría que en lugar de ser apical, es lateral.

Las yemas que se encuentran en un estado retrasado de su desarrollo son más radiorresistentes y por ello necesitan dosis mayores para ser inhibidas. Aunque se les destruya una parte del meristemo, el resto del tejido meristemático puede seguir dividiéndose y originar un nuevo brote. Naturalmente esta regeneración lleva consigo un retraso con respecto al testigo, retraso que se aprecia muy bien en las observaciones efectuadas sobre la brotación al poco tiempo de la irradiación.

Otro hecho característico de las yemas que reciben una dosis más o menos baja de radiación es el desarrollo de los primordios foliares. Estos órganos en el momento de recibir la radiación estaban ya formados y al desaparecer la inhibición que ejerce so-

bre ellos el ápice, se alargaron y formaron la roseta basal característica que se ha citado anteriormente. El empleo de ácido giberélico hace que este desarrollo se amplifique mucho por efecto del alargamiento y que llegue incluso a manifestarse en las yemas que habían recibido dosis de 12 Krad.

En la experiencia realizada con los injertos se ha demostrado que si bien el parénquima irradiado no ejerce ningún efecto sobre la brotación de las yemas testigo, sí que parece afectar al desarrollo posterior de éstas. La interpretación que en nuestro caso damos a este hecho, radica en la posible alteración del balance de sustancias reguladoras del crecimiento como se justificó en el punto anterior.

#### 4.5. COMPARACION DE LOS CUATRO TRATAMIENTOS ANTIGERMINANTES

Los tratamientos que dieron un resultado más aparente inhibiendo la brotación, fueron los que se realizaron con IPC-CIPC y con la irradiación a dosis de 9 Krad. Los tubérculos tratados con MH no brotaron pero desarrollaron en las yemas unos esbozos de brotes (fig. 63) muy acortados y extraordinariamente ramificados. Los tubérculos tratados con refrigeración estuvieron muy inhibidos durante su conservación pero no pudieron impedir el que sus yemas apuntaran un poco de desarrollo ya a los tres meses de su almacenamiento.

En cuanto a la respuesta de las yemas cultivadas "in vitro" sobre medio Heller, se observó una clara diferencia entre las irradiadas y las restantes. Por un lado, las yemas procedentes de tubérculos testigo así como las procedentes de los refrigerados y de los tratados con IPC-CIPC tuvieron un desarrollo análogo en las tres épocas de siembra. En las yemas procedentes del tratamiento con MH, el desarrollo se redujo en más de un 50% con respecto a las testigo pero siempre emergieron y adquirieron una forma característica (muy ramificadas, con abundante número de tallos y primordios). En las yemas irradiadas a 9 Krad no se apreciaron síntomas de brotación. Esta clara diferencia de desarrollo es la que sirve de fundamento para el test de identificación del tratamiento de patatas por irradiación.

5.- APLICACION PRACTICA DE LOS  
RESULTADOS OBTENIDOS

## 5. APLICACION PRACTICA DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS. TEST DE IDENTIFICACION DE PATATAS IRRADIADAS BA- SADO EN EL CULTIVO DE YEMAS "IN VITRO"

Como consecuencia de todos los estudios anteriores, se ha llegado a la conclusión de que en un tubérculo que no haya brotado se puede determinar si la ausencia de brotación se debe a que el tubérculo se encuentra en:

- Estado natural de reposo vegetativo.
- Estado de dormición mantenido por refrigeración.
- Estado de dormición mantenido por IPC o por CIPC.
- Estado de reposo causado por haber sido tratada la planta madre con hidrazida maleica.
- Estado de reposo por haber sido irradiado.

Dentro de este último caso, si la dosis de irradiación fué baja, se puede llegar a determinar aproximadamente su magnitud y el estado en que se encontraría el tubérculo en el momento de realizar la irradiación. A continuación se detalla la manera de realizar e interpretar este tipo de bioensayo.

### 5.1. REALIZACION PRACTICA

#### 5.1.1. Material necesario.

- Tubos de vidrio "pyrex".
- Medio nutritivo cuya composición se detalla en la Tabla II. Este medio podrá ser suplementado con ácido gi-

berélico si se desea.

- Sacabocados de diámetro constante (en nuestro caso obtuvimos buen resultado con el de 18 mm)
- Pinzas y escalpelo.
- Cámara estéril de siembra.
- Autoclave para esterilización de los medios de cultivo.
- Cámara de cultivo de temperatura controlada a 25°C y sin iluminación.

#### 5.1.2. Siembra

En cada ensayo se deben utilizar unos 24 tubos como mínimo para que la experiencia sea representativa, aunque esto dependerá como es lógico del tamaño de la muestra. La muestra de tubérculos se dividirá en dos lotes. Uno de ellos será almacenado en obscuridad y en condiciones favorables a la brotación (15°C aproximadamente y a un 85% de humedad) y el otro se destinará a la siembra teniendo en cuenta que de cada tubérculo se pueden tomar una o dos yemas de la corona.

Los tubérculos se lavarán superficialmente antes de ser utilizados y la siembra se realizará en la cámara estéril según el procedimiento descrito en el punto 2.3.2., utilizando el sacabocados para calibrar el tamaño del tejido sembrado.

Los tubos que contienen el medio nutritivo (de 10 a 15 ml) habrán sido esterilizados previamente en autoclave a 120°C durante 20 minutos. No es necesario añadir ácido giberélico para obtener un buen crecimiento de las yemas pero, si se desea, se puede utilizar para resaltar sus efectos y así poner más de relieve las diferencias entre los distintos tratamientos.

Una vez realizada la siembra, los tubos se colocarán en una cámara de temperatura controlada a 25°C.

Las observaciones se realizarán semanalmente pudiéndose obtener resultados concluyentes al final de la primera semana de cultivo. Es conveniente, si se puede, disponer de tubérculos testigo de la misma variedad que los ensayados y que se encuentren en estado de reposo o de dormición causada por bajas temperaturas para poder comprobar su brotación normal y tomarla como referencia.



## 5.2. INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Una vez realizadas las siembras, las yemas cultivadas pueden dar origen a:

- a).- Yemas con brotación normal, con tallos derechos y en poco número (uno o dos por yema).
  - a a).- Si los tubérculos del mismo lote que estaban almacenados presentan síntomas de brotación, se puede asegurar que los tubérculos estaban en fase de dormición provocada posiblemente por la acción de bajas temperaturas.
  - a b).- Si los tubérculos del mismo lote y almacenados no presentan síntomas de brotación, puede ser debido a:
    - a b a).- Que se encuentran en estado de reposo.
    - a b b).- Que hayan sido tratados con IPC o con CIPC; en este caso un análisis de residuos tomando la muestra de la piel y analizándola por cromatografía de gases podría confirmarlo.
- b).- Yemas con poco desarrollo y con numerosos esbozos de brotes engrosados y mezclados con primordios foliares. Se tratará muy posiblemente de yemas procedentes de tubérculos cuya planta madre fué tratada con MH. Es conveniente que la persona que vaya a interpretar el resultado haya visto previamente el desarrollo de una yema con este tratamiento ya que la observación visual es mejor que cualquier descripción.

c).- Yemas sin brotación. Si el trozo de parénquima mantiene un aspecto normal, fresco y turgente, se puede asegurar que el tubérculo ha sido inhibido por irradiación ya que entre los procedimientos autorizados para la conservación de patatas, el método de irradiación es el único que da este resultado<sup>\*</sup>.

---

<sup>\*</sup> No se considera en este caso algún tipo de tratamiento no autorizado y por tanto fraudulento que pudiera producir un efecto análogo a la radiación.

### 5.3. INTERES DEL BIOENSAYO PARA LA IDENTIFICACION DE PATATAS IRRADIADAS

#### 5.3.1. Para el control oficial del tratamiento

El hecho de que la legislación de numerosos países exija en los envases una etiqueta con la indicación de que los tubérculos han sido irradiados, puede dar lugar a que algún expendedor desaprensivo por miedo a los reparos del comprador, elimine la etiqueta y trate de vender estos productos como tubérculos en reposo normal. Con objeto de salvaguardar los intereses del consumidor es por lo que se ha creído necesario el que los organismos competentes de la Administración posean un método de identificación de las patatas irradiadas.

#### 5.3.2. Para el control en las plantas industriales de irradiación de tubérculos

Con objeto de controlar el tratamiento dado a los tubérculos y para prevenir el efecto de una dosis baja, sería interesante la aplicación de este método de control en las plantas industriales de tratamiento. Un muestreo diario de los tubérculos tratados y una siembra posterior de sus yemas podría servir para tener una cierta información sobre las condiciones de irradiación, sobre el estado de los tubérculos que se están tratando, y sobre la dosis administrada.

Si el tubérculo está en reposo inicial cuando se irradia, una dosis baja produciría:

- Desarrollo de los primordios foliares.
- En algunos casos, brotes más numerosos pero con menor vigor y más cortos que los testigo.

Si el tubérculo se irradia cuando está próximo a finalizar el período de reposo, una dosis baja produciría:

- Desarrollo de primordios más largos que en el caso anterior, a igualdad de dosis.
- Brotación más abundante que en el caso anterior pero, a igualdad de dosis, aparecerían más brotes por yema brotada.
- Presencia de tallos con brotación truncada.

Una dosis alta aplicada en cualquier momento del período de almacenamiento del tubérculo produciría siempre una ausencia total y absoluta de brotación y de emergencia de primordios, a no ser que se utilizara el ácido giberélico, en cuyo caso, y en función de la dosis recibida, se podrían llegar a desarrollar los primordios.

## 6. CONCLUSIONES

## 6. CONCLUSIONES

- 1.- El efecto inhibitor de la radiación gamma sobre la brotación de los tubérculos de patata, se debe fundamentalmente a la lesión que se produce sobre los meristemos de las yemas y no a las alteraciones que se originan en el parénquima como consecuencia de la irradiación.
- 2.- La influencia del parénquima de patata irradiado sobre el desarrollo de los brotes, es ejercida principalmente sobre el acortamiento de la longitud de éstos más que sobre la brotación propiamente dicha.
- 3.- La sensibilidad de las yemas a la radiación depende de su estado de desarrollo, siendo tanto más sensibles cuanto más evolucionadas estén.
- 4.- Los tubérculos irradiados en época temprana de su estado de reposo necesitan, para inhibir totalmente su brotación, menos dosis de irradiación que los tratados en época tardía. Este hecho no está en contradicción con el punto anterior ya que en un tubérculo en estado avanzado de su desarrollo existen numerosas yemas poco desarrolladas además de los apicales.
- 5.- En los tubérculos irradiados en época tardía a dosis de 3 y 6 Krad, se puede apreciar una brotación mayor que en los de dosis análogas irradiados en época temprana. Esta brotación no es debida al desarrollo de las yemas apicales, que por encontrarse en una fase avanzada resultan ser las más afectadas, sino al desarrollo de las yemas axilares que se encontraban en estado inhibido a causa de la dominancia apical, y al ser destruída ésta empiezan a desarrollarse. La existencia de numerosas yemas axilares (en mayor proporción que en la época temprana

del reposo) aumenta la probabilidad de que alguna no resulte afectada y como consecuencia pueda brotar. También contribuye a la brotación de los tubérculos irradiados a 3 y 6 Krad en época tardía el hecho de que en el momento de efectuar el tratamiento existan ya realizadas un cierto número de divisiones caulinarias y según se ha comprobado, la radiación a estas dosis inhibe la mitosis pero no el alargamiento.

- 6.- Las dosis de 9 y 12 Krad inhiben la brotación de los tubérculos irradiados tanto temprana como tardíamente. Estas dosis de radiación inhiben tanto las divisiones mitóticas como el alargamiento celular.
- 7.- La emergencia de los primordios foliares con anterioridad a los brotes, es un síntoma de radioinhibición. La longitud de los primordios foliares desarrollados en yemas procedentes de tubérculos irradiados en época tardía, es mayor que la de los irradiados en época temprana.
- 8.- La aparición de brotes truncados (vástagos con una roseta de primordios foliares desarrollados en la parte apical) es un síntoma inequívoco de que la irradiación se efectuó en una época en que la yema estaba bastante avanzada en su desarrollo.
- 9.- Por acción del ácido giberélico se puede estimular el desarrollo de los primordios foliares incluso en las yemas que recibieron 12 Krad. Los brotes de las yemas irradiadas a 3 y 6 Krad, también se alargan al aplicarles ácido giberélico, aunque siempre en mucha menor proporción que los testigo. Este hecho puede servir para patentizar el efecto de la radiación sobre el desarrollo de las yemas de los tubérculos.

10.- Para detectar el tratamiento por irradiación en los tubérculos no brotados, se puede establecer un bioensayo fundado en el estudio del desarrollo de las yemas aisladas y cultivadas sobre medio nutritivo. Con este bioensayo se puede determinar si la inhibición de la brotación del tubérculo es debida a una causa natural (estado de reposo) o si ha sido por efecto de algún tratamiento antigerminante, pudiéndose llegar a diferenciar entre irradiación, refrigeración, aplicación de IPC-CIPC sobre los tubérculos o aplicación de hidracida maleica sobre la planta madre. Si la dosis de irradiación no fué muy elevada, se puede llegar a establecer una estimación de ésta, así como el estado de evolución del tubérculo en el momento de recibir la radiación.



## 7. BIBLIOGRAFIA

## 7. BIBLIOGRAFIA

- ADDICOTT, F.T. and Lyon, J.L. 1969.- Physiology of abscisic acid and related substances.-Ann. Rev. Plant Physiol., 20:139-164.
- AMEN, R.D., 1968.- A model of seed dormancy.- Bot. Rev., 34:1-31.
- AUDIA, W.V., SMITH, W.L., and CRAFT, C.C., 1962.- Effects of isopropyl N-(3-chlorophenyl) carbamate on suberin, periderm, and decay development by Katahdin potato slices.- Bot. Gaz., 123: 255-258.
- BAKER, R.E., 1943.- Induced polyploid, periclinal chimeras in *Solanum tuberosum*.- Am. J. Bot., 30: 187-195.
- BARALDI, D., 1973.- Effect of gibberellic acid and Kinetin on irradiated, chemically treated and untreated potatoes.- Comunicación n<sup>o</sup> 24 Colloque International sur identification des denrées alimentaires irradiées. C.C.E. y B.F.L., Karlsruhe.
- BENNET-CLARK, T.A. and KEFFORD, N.P., 1953.- Chromatography of the growth substances in plant extracts.- Nature, 171: 645-647.
- BEWLEY, J.D. and FOUNTAIN, D.W., 1972.- A distinction between the actions of abscisic acid, gibberellic acid and cytokinins in light-sensitive lettuce seed.- Planta, 102: 368-371.
- BIELINSKA - CZARNECKA, M. and DOMANSKA, J., 1970.- Changes in the level of some growth stimulators during dormancy and sprouting of potato tubers.- Bulletin de L'Academie Polonaise des Sciences, 18: 173-175.

- BLOMMAERT, K.L.J., 1954.- Growth and inhibiting substances in relation to the rest-period of the potato tuber.- *Nature*, 174: 970-972.
- BLUMENTHAL - GOLDSCHMIDT, S. and RAPPAPORT, L., 1965.- Regulation of bud rest in tubers of potato *Solanum tuberosum* L. II. Inhibition of sprouting by inhibitor B-complex and reversal by gibberellin A<sub>3</sub>.- *Plant Cell Physiol.*, 6: 601-608.
- BOO, L., 1961.- The effect of gibberellic acid on the inhibitor B-complex in resting potato.- *Physiol. Plant.*, 14: 676-681.
- BOSTRACK, J.M., and SPARROW, A.H., 1969.- Effects of chronic gamma irradiation on the anatomy of vegetative tissues of *Pinus rigida* Mill.- *Rad. Bot.*, 9: 367-375.
- BRUINSMA, J., 1962.- A survey of recent Japanese research on dormancy in potato tubers.- *Eur. Potato J.*, 5: 195-203.
- BRUINSMA, J., SINNEMA, A., BAKKER, D. and SWART, J., 1967.- The use of gibberellic acid (GA) and N-dimethylamino-succinamic acid (B9) in the testing of seed potatoes for virus infection.- *Eur. Potato J.*, 10: 136-152.
- BRUINSMA, J., and SWART, J., 1970.- Estimation of the course of dormancy of potato tubers during growth and storage, with the aid of gibberellic acid.- *Potato Res.*, 13: 29-40.
- CECICH, R.A. and MIKSCHKE, J.P., 1970.- The response of white pruce (*Picea glauca* (Moench) Voss) shoot apices to exposure of chronic gamma radiation.- *Rad. Bot.*, 10: 457-468.
- CHOUDHURI, H.C. and GHOSE, S., 1963.- Effect of gibberellic acid on sprouting growth of internodes, tuber shape and yield in different varieties of potatoes.- *Eur. Potato J.*, 6: 160-167.

- CLAVER, F.K., 1960.- The effect of gibberellic acid and maleic hydrazide on sprouting of potatoes.- *Phyton*, 15: 29-35.
- CLOWES, F.A.L., 1961.- *Apical Meristems*.- Blackwells Scientific Publications. Oxford.
- CLOWES, F.A.L., 1965.- Meristems and the effect of radiation on cells.- *Endeavour*, 24: 8-12.
- COME, D., 1971.- Dosage des acides phénoliques du periderme des tubercules de pomme de terre. Application à l'étude de la dormance de ces tubercules.- *Lebensm.- Wiss. u. Technol.*, 4: 12-19.
- CORNFORTH, J.W., MILBORROW, B.V., RYBACK, G. and WAREING, P.F., 1965.- Identity of Sycamore "dormin" with abscisin II.- *Nature*, 205: 1269-1270.
- CORNFORTH, J.W., MILBORROW, B.V. and RYBACK, G., 1966.- Identification and estimation of (+)-abscisin II ("dormin") in plant extracts by spectropolarimetry.- *Nature*, 210: 627-628.
- CORSON, G.E. Jr., 1969.- Cell division studies of the shoot apex of *Datura stramonium* during transition to flowering.- *Am. J. Bot.*, 56: 1127-34.
- CRAFT, C.C., and AUDIA, W.V., 1959.- Some effects of isopropyl N-(3-chlorophenyl) carbamate on respiration, water uptake and ion leakage of potato tissue.- *Am. Potato J.*, 36: 386-393.
- CROCKETT, L.J., 1968.- The effects of chronic gamma radiation on the internal apical configurations of the vegetative shoot apex of *Coleus blumei*.- *Am. J. Bot.*, 55: 265-268.

DEPARTAMENTO DE SANIDAD DE PARIS Y SOCIEDAD

CONSERVATOME DE LYON, 1958.- Analytical study of potato tubers subjected to nuclear radiation.- Proc. of the II Int. Conf. on the Peaceful Uses of Atomic Energy. Ginebra, 27: 434-436.

DETROUX, L. y GOSTINCHAR, J., 1967.- Los herbicidas y su empleo.- Edit. Oikos-Tau S.A. Barcelona.

DHARKAR, S.D., 1966.- Radiation preservation of some fruits and vegetables.- En: Application of food irradiation in developing countries. IAEA, Vienna, STI/DOC/10/54: 115-122.

DHARKAR, S.D. and SREENIVASAN, A., 1966.- Irradiation of tropical fruits and vegetables.- En: Food Irradiation. IAEA, Vienna, STI/PUB/127: 635-651.

DOMANSKI, R., and KOZLOWSKI, T.T., 1967.- Variations in kinetin-like activity in buds of *Betula* and *Populus* during release from dormancy.- Canadian J. Bot., 46: 397-403.

DONINI, B., 1967.- Effects of chronic gamma irradiation on *Pinus pinea* and *Pinus halepensis*.- Rad. Bot., 7: 183-193.

DRASIL, V. and RYZNAR, L., 1968.- Comparison of alpha and gamma ray radiolysis of thymine.- En: Biophysical aspects of radiation quality. II Panel Report. IAEA, Vienna, STI/ PUB/171, 17-25.

DUPUY, P. et USCIATI, M., 1966.- Influence d'extraits de pommes de terre irradiées sur la croissance des microorganismes.- Rad. Bot., 6: 499-505.

DUTTA, T.R., and CHAKRABORTY, N.K., 1968.- Rapid breaking of potato tuber dormancy by purines.- J. Indian Bot. Soc., 47: 300-305.

- DUTTA, T.R. and Kaley, D.M., 1968.- A method for rapid breaking of dormancy in potatoes by purines.- Indian J. Plant Physiol. Vol. 11,1.
- EL ANTABLY, H.M.M., WAREING, P.F. and HILLMAN, J., 1967.- Some physiological responses to D,L-abscisin (dormin).- Planta, 73: 74-90.
- ESAU, K., 1959.- Anatomía vegetal.- Ediciones Omega S.A. Barcelona.
- EVANS, H.J., 1965.- Effects of radiations on meristematic cells.- Rad. Bot., 5: 171-183.
- EWING, E.E., LAYER, J.W., BOHN, J.C., and LISK, D.J., 1968.- Effects of chemical sprout inhibitors and storage conditions on internal sprouting in potatoes.- Am. Potato J., 45: 56-71.
- FERNANDEZ GONZALEZ, A., 1966.- Algunos ensayos sobre conservación de alimentos por medio de la radiación gamma de Cs-137.- Boletín nº 54 del Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas : 135-158.
- FRANKLIN, E.W. and THOMPSON, N.R., 1953.- Some effects of maleic hydrazide on stored potatoes.- Am. Potato J., 30: 289-295.
- GARCIA DE MATEOS, A., RIVAS, A., ORTIN, N., DEL VAL, M., 1967.- Conservación de alimentos por irradiación. VII. Investigaciones realizadas con dos variedades (Alava y Gineke) de patatas españolas.- Report J.E.N., IS-2340/1-9.
- GARCIA TORRES, L., 1973.- Efectos del ethrel (ac.2-cloro-etil-fosfónico) sobre la tuberización y brotación de la patata (Solanum tuberosum L.).- Tesis doctoral. U.P.M., E.T.S. de Ingenieros Agrónomos.

- GAUTHERET, R.J., 1959.- La culture des tissus végétaux.- Masson et Cie, edit. Paris.
- COMEZ-CAMPO, C. y DELGADO, L., 1964.- Radioresistance in Crucifers.- Rad. Bot., 4: 479-483.
- GOMEZ-CAMPO, C., 1973.- Apex inhibition by radiation in Bryophyllum tubiflorum.- Tenth Annual Meeting of the European Society for Radiation Biology. Madrid.
- GOMEZ-CAMPO, C., 1974.- Comunicación personal.
- GOODWIN, P.B., 1967.- The control of branch growth on potato tubers. I. Anatomy of buds in relation to dormancy and correlative inhibition.- J. Exp. Bot., 18: 78-86.
- GUNCKEL, J.E. and SPARROW, A.H., 1961.- Ionizing radiations: biochemical, physiological and morphological aspects of their effects on plants.- Encycl. Plant Physiol., 16: 555-611.
- HAYASHI, F., BLUMENTHAL-GOLDSCHMIDT, S. and RAPPAPORT, L. 1962.- Acid and neutral gibberellin-like substances in potato tubers.- Plant Physiol., 37: 774-80.
- HAYASHI, F., and RAPPAPORT, L., 1962.- Gibberellin-like activity of neutral and acidic substances in the potato tuber.- Nature, 195: 617-618.
- HAYASHI, F. and RAPPAPORT, L., 1965.- In vitro conversion of neutral gibberellin-like substances from potato tubers.- Nature, 205: 414-415.
- HAYASHI, F. and RAPPAPORT, L., 1966.- Isolation, cristallization an partial identification of potato factor II from potato tubers.- Plant Physiol., 41: 53-58.

- HEMBERG, T., 1949.- Significance of growth-inhibiting substances and auxins for the rest period of the potato tuber.- *Physiol. Plant.*, 2:24-36.
- HEMBERG, T., 1952.- The significance of the acid growth-inhibiting substances for the rest period of the potato tuber.- *Physiol. Plant.*, 5: 115-129.
- HEMBERG, T., 1954.- Studies on the occurrence of free and bound auxins and of growth-inhibiting substances in the potato tuber.- *Physiol. Plant.*, 7: 312-322.
- HEMBERG, T., 1958.- The significance of the inhibitor B-complex for the rest-period of the potato tuber.- *Physiol. Plant.*, 11: 615-626.
- HEMBERG, T. and LARSSON, I., 1961.- The inhibitor B-complex from resting potato tubers as an inhibitor of  $\alpha$ -amylase.- *Physiol. Plant.*, 14: 861-867.
- HEMBERG, T., 1967 a.- Abscisin II as an inhibitor of  $\alpha$ -amylase.- *Acta Chemica Scandinavica*, 21: 1665-1666.
- HEMBERG, T., 1967 b.- The action of endogenous growth-inhibiting substances and gibberellins on the rest-period of the potato tuber.- *Wissenschaftliche Zeitschrift der Universität Rostock. Mathematisch-Naturwissenschaftliche Reihe. Heft 45. Herausgeber: Der Rektor.*
- HEMBERG, T. and ORVELID, J., 1967.- Content of the inhibitor B-complex in the peeling from apical and basal halves of potato tubers at different stages of rest.- *Svensk Botanisk Tidskrift.*, 61: 10-14.
- HEMBERG, T., 1970.- The action of some cytokinins on the rest-period and the content of acid growth-inhibiting substances in potato.- *Physiol. Plant.*, 23: 850-858.



- HIGHLANDS, M.E., LICCIARDELLO, J.J., and CUNNINGHAM, C.E., 1952.- Reducing sugar content of Maine grown potatoes treated with maleic hydrazide.- Am. Potato J., 29: 225-227.
- HILL, T.A. 1973.- Endogenous Plant Growth Substances.- Edit. por Edward Arnold Limited. London.
- HOLST; U.B., 1971.- Some properties of inhibitor B from *Solanum tuberosum* compared to abscisic acid.- Physiol. Plant., 24: 392-396.
- HOUSLEY, S. and TAYLOR, W.C., 1958.- Studies on plant-growth hormones: VI. The nature of inhibitor B in potato.- J. Exp. Bot., 9: 458-471.
- HRUSCHKA, H.W., MARTH, P.C., and HEINZE, P.H., 1965.- External sprout inhibition and internal sprouts in potatoes.- Am. Potato J., 42: 209-222.
- HRUSCHKA, H.W. and HEINZE, P.H., 1967.- External and internal sprouts in potatoes dipped in low-concentration CIPC-water emulsions.- Am. Potato J., 44: 51-55.
- HYODO, H. and URITANI, I., 1966.- A study on increase in o-diphenol oxidase activity during incubation of sliced sweet potato tissue.- Plant Cell Physiol., 7: 137-144.
- ICHIKAWA, S. and SPARROW, A.H., 1967.- Radiation-induced loss of reproductive integrity in the stamen hairs of a polyploid series of *Tradescantia* species.- Rad. Bot., 7: 429-441.
- IQBAL, J., 1969.- Radiation induced growth abnormalities in vegetative shoot apices of *Capsicum annum* L. in relation to cellular damage.- Rad. Bot., 9: 491-501.

- IQBAL, J., 1970.- Recovery from cellular damage in vegetative shoot apices *Capsicum annuum* L. after acute gamma irradiation.- *Rad. Bot.*, 10: 337-345.
- IQBAL, J., 1972.- Effects of acute gamma radiation on the survival, growth and radiosensitivity of the apical meristems of *Capsicum annuum* L. at different stages of seedling development.- *Rad. Bot.*, 12: 197-204.
- KAHAN, R.S. and TEMKIN-GORODEISKI, N., 1968.- Storage test and sprouting control on Up-to-date variety potatoes and on an experimental onion variety (Beit Alpha). En: Preservation of fruit and vegetables by radiation. IAEA, Vienna, STI/PUB/149: 29-37.
- KAWASHIMA, N., and URITANI, I., 1965.- Some properties of peroxidases produced in sweet potato infected by the black rot fungus.- *Plant Cell Physiol.*, 6: 247-265.
- KENNEDY, E.J. and SMITH, O., 1951.- Response of the potato to field application of maleic hydrazide.- *Am. Potato J.*, 28; 701-712.
- KHAN, A.A., 1968.- Inhibition of gibberellic acid induced germination by abscisic acid and reversal by cytokinins.- *Plant Physiol.*, 43: 1463-1465.
- KILIAN, W., CHEUNG, K., and HENDERSON, H.M., 1972.- Effect of physiological stress on potato polyphenol oxidase.- *Phytochemistry*, 11: 1255-1260.
- KUEHNERT, C.C., 1962.- Cytological and morphological changes induced in tomato as a result of thermal neutron irradiation.- *Rad. Bot.*, 2: 81-88.

- LANG, K. and BASSLER, K.H., 1966.- Nutritional value of irradiated potatoes.- *En Food Irradiation*. IAEA. Vienna, STI/PUB/127: 167-169.
- LANGENAUER, H.D., HASKELL, D.A. and OSBORNE, T.S., 1973.- Effects of acute X-irradiation upon growth of *Parthenocissus tricuspidata* axillary buds.- II Anatomical damage and recovery.- *Rad. Bot.*, 13: 197-205.
- LAPINS, K.O., BAILEY, C.H. and HOUGH, L.F., 1969.- Effects of gamma rays on apple and peach leaf buds at different stages of development.- I. Survival, growth and mutation frequencies.- *Rad. Bot.*, 9: 379-391.
- LAPINS, K.O. and HOUGH, L.F. 1970.- Effects of gamma rays on apple and peach leaf buds at different stages of development. II. Injury to apical and axillary meristems and regeneration of shoot apices.- *Rad. Bot.*, 10: 59-68.
- LAWRENCE, Ch. W., 1971.- *Cellular Radiobiology*.- Edit. por Edward Arnold Limited. London.
- LESHEM, B. and CLOWES, F.A.L., 1972.- Rates of mitosis in shoot apices of potatoes at the beginning and end of dormancy.- *Ann. Bot.*, 36: 687-691.
- LINDBLOM, H., 1968.- Sprouting behaviour in relation to storage conditions and to indole-3-acetic acid, gibberellins and inhibitor B in seed potato tubers.- *Acta Agriculturae Scandinavica*, 18: 177-195.
- LIPPERT, L.F., RAPPAPORT, L. and TIMM, H., 1958.- Systemic induction of sprouting in white potatoes by foliar applications of gibberellin.- *Plant Physiol.*, 33: 132-133.

- LOVELL, P.H. and BOOTH, A., 1967.- Effect of gibberellic acid on growth, tuber formation and carbohydrate distribution in *Solanum tuberosum*.- *New Phytol.*, 66: 525-537.
- MADISON, M. and RAPPAPORT, L., 1968.- Regulation of bud rest in tubers of potato *Solanum tuberosum* L. V. Absciscic acid and inhibitors of nucleic acid and protein syntheses.- *Plant Cell Physiol.*, 9: 147-153.
- MAKSYMOWYCH, R., 1973.- Analysis of leaf development.- Cambridge University Press.
- MARINOS, N.G. and HEMBERG, T., 1960.- Observations on a possible mechanism of action of the inhibitor B-complex.- *Physiol. Plant.*, 13: 571-581.
- MARTH, P.C. and SCHULTZ, E.S., 1950.- Effect of growth regulators on sprouting of stored table stock potatoes and on waste piles for control of diseases.- *Am. Potato J.*, 27: 23-32.
- MARTH, P.C. and SCHULTZ, E.S., 1952.- A new sprout inhibitor for potato tubers.- *Am. Potato J.*, 29: 268-272.
- MATHUR, P.B., 1963.- Variety developmental stage and dose rate in irradiation of the potato.- *Nature*, 198: 99.
- MATSUYAMA, A., 1966.- Recent advances in food irradiation research in Japan.- En: *Food Irradiation* IAEA, Vienna, STI/PUB/127: 767-784.
- MATSUYAMA, A., 1973.- Present status of food irradiation research in Japan with special reference to microbiological and entomological aspects.- En *Radiation preservation of food*. IAEA. Vienna, STI/PUB/317: 261-278.

McCOMB, A.J., McCOMB, J.A. and DUDA, C.T., 1970.-

Increased ribonucleic acid polymerase activity associated with chromatin from internodes of dwarf pea plants treated with gibberellic acid.- *Plant Physiol.*, 46: 221-223.

METLITSKII, L.V., y OZERETSKOVSKAYA, O.L., 1968.-

En: *Plant Immunity. Biochemical Aspects of Plant Resistance to Parasitic Fungi.* Plenum Press. New York.

MICHIELS, L., 1967.- Contribution a l'etude de l'action inhibi-

trice du rayonnement gamma sur la croissance des germes du tubercule de la pomme de terre. Perturbations à brève échéance de la respiration et du métabolisme glucidique après irradiation gamma du tubercule de pomme de terre.- *Tesis Doctoral, Fac. de Ciencias. Univ. de Paris.*

MIKSCHE, J.P., SPARROW, A.H. and ROGERS, A.F., 1962.-

The effects of chronic gamma irradiation on the apical meristem and bud formation of *Taxus media*.- *Rad. Bot.*, 2: 125-129.

MILBORROW, B.V., 1967.- The identification of (+)- abscisin II

((+)-dormin) in plants and measurement of its concentrations.- *Planta*, 76: 93-113.

MOREL, G. and MULLER, J., 1964.- Culture in vitro of apical

meristem of the potato.- *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, 258: 5250-5252.

MORRE, J., 1970.- Mise en evidence d'aldehyde malonique dans

les solutions de glucides irradiés aux rayons gamma. En: *Colloquium on the identification of irradiated foodstuffs.*- Luxembourg 1970. Commission of the European Communities, 149 - 157.

- NAIR, P.M., THOMAS, P., USSUF, K.K., SURENDRANATHAN, K.K., LIMAYE, S.P., SRIRANGARAJAN, A.N., and PADWAL DESAI, S.R., 1973.- Studies of sprout inhibition of onions and potatoes and delayed ripening of bananas and mangoes by gamma irradiation. En: Radiation preservation of food. IAEA, Vienna, STI/PUB/317: 347-366.
- NAUGATUCK CHEMICAL INTERNATIONAL COMPANY, 1961.- Control de Germinación. Report informativo.
- NYLUND, R.E., and AYRES, L.C., 1964.- Sprout inhibition of table stock potatoes with CIPC-treated paper bags.- Am. Potato J., 41: 341-348.
- NYS, L., 1970.- Incidences d'un traitement antigerminatif sur les caracteres technologique et culinaire du tubercule.- En: L'irradiation des pommes de terre. Cahier d'information du bureau Eurisotop, 45: 63-75.
- OGAWA, M., MAJIMA, R., URITANI, I. and NAMIKI, M., 1968.- Effects of gamma-ray irradiation on metabolic changes in potato tubers in response to cutting.- Plant Cell. Physiol., 9: 511-519.
- ONDERDELINDEN, D., VAN DONGEN, R., and STRACKEE, L., 1973.- Additional measurements of conductivity changes in potatoes induced by ionizing radiation.- Comunicación nº 14 del Colloque International sur identification des denrées alimentaires irradiées. C.C.E. y B.F.L., Karlsruhe.
- OSHIMA, N. and LIVINGSTON, C.H., 1963.- In-vitro culture of potato tissues.- Am. Potato J., 40: 9-16.

- PALMER, C.E. and SMITH, O.E., 1969.- Cytokinins and tuber initiation in the potato *Solanum tuberosum* L.- *Nature*, 221: 279-280.
- PENNER, H., 1970.- Identification of irradiated potatoes by lack of wound periderm formation. En: Colloquium on the identification of irradiated foodstuffs.- Luxembourg, October 27, 1970. Commission of the European Communities, 67: 72.
- PENNER, H., 1973.- Der metabolische Nachweis der Kartoffelbestrahlung.- Comunicación nº 16 del Colloque International sur l'identification des denrées alimentaires irradiées. C.C.E. y B.F.L. Karlsruhe.
- PHILLIPS, D.J. and WAREING, P.F., 1959.- Studies in dormancy of sycamore. II The effect of daylength on the natural growth inhibitor content of the shoot.- *J. Exp. Bot.*, 10: 504-514.
- PITT, D., 1971.- Purification of a ribonuclease from potato tubers and its use as an antigen in the immunochemical assay of this protein following tuber damage.- *Planta*, 101: 333-351.
- PITT, D. and GALPIN, M., 1971.- Increase in ribonuclease activity following mechanical damage to leaf and tuber tissues of *Solanum tuberosum* L.- *Planta*, 101: 317-332.
- POMAROLA, M., 1970.- L'irradiation en comparaison des autres méthodes sur le plan sanitaire et réglementaire.- En L'irradiation des pommes de terre. Cahier d'information du bureau Eurisotop nº45: 156-157.
- PRATT, C., 1959.- Radiation damage in shoot apices of Concord grape,- *Am. J. Bot.*, 46: 103-109.

- PRATT, C., EINSET, J., and ZAHUR, M., 1959.- Radiation damage in apple shoot apices.-Am. J. Bot., 46: 537-544.
- PRATT, C., 1967.- Axillary buds in normal and irradiated apple and pear.- Rad. Bot., 7: 113-123.
- PRATT, C., 1968.- Radiation damage in shoots of sweet cherry (*Prunus avium* L.).- Rad. Bot., 8: 297-306.
- RAO, S.N., and WITTWER, S.H., 1955.- Further investigations on the use of maleic hydrazide as a sprout inhibitor for potatoes.- Am. Potato J., 32: 51-59.
- RAPPAPORT, L., LIPPERT, L.F. and TIMM, H., 1957.- Sprouting, plant growth and tuber production as affected by chemical treatment of white potato seed pieces. I. Breaking the rest period with gibberellic acid.- Am. Potato J., 34: 254-260.
- RAPPAPORT, L. and SMITH, O.E., 1962.- Gibberellins in the rest period of potato tubers. En "Eigenschaften und Wirkungen der Gibberelline": Springer Verlag, Berlin, 37-45.
- RAPPAPORT, L., and SACHS, M., 1967.- Wound-induced gibberellins.- Nature, 214: 1149-1150.
- RAPPAPORT, L. and WOLF, N., 1968.- Regulation of bud rest in tubers of potato, *Solanum tuberosum* L. IV. Gibberellins and nucleic acid synthesis in excised buds.- En "Biochemical Regulation in Diseased Plants or Injury". The Phytopathological Society of Japan, Tokyo, 203-311.
- RAPPAPORT, L., 1973.- Mechanism of dormancy in storage organs.- Proceedings of the 18TH International Horticultural Congress, 5: 143-155.



ROUSHDY, H.M., SHUKRY, K., and MAHMOUD, A.A., 1973.-

Lower radiation levels for better storage ability of potatoes and onions using certain chemical treatments. En: Radiation preservation of food. IAEA, Vienna, STI/PUB/317: 105-125.

RUBIN, B.A. and METLITSKII, L.V., 1958.- A study of the action of ionizing radiation on the metabolism of potato tubers in relation to the problem of their all-year-round storage.- Proceedings of the Second United Nations International Conference on the Peaceful Uses of Atomic Energy. Geneva, September 1958. 27: 437-443.

SAGAWA, Y. and MEHLQUIST, G., 1957.- The mechanism responsible for some X-ray induced changes in flower color of the carnation *Dianthus caryophyllus*.- Am. J. Bot., 44: 397-403.

SAINT-LEBE, L. and BERGER, G. con la colaboración técnica de AGNEL, J.P., 1970.- Assainissement de l'amidon industriel par irradiation: modifications biochimiques et test d'irradiation.- Colloquium on the identification of irradiated foodstuffs, Commission of the European Communities. Luxemburgo, 131-139.

SANDRET, F. et MICHIELS, L., 1966.- Les rayons gamma, inhibiteurs de la germination des pommes de terre.- Modalités, répercussions, perspectives.- En: Industries agricoles et alimentaires. Anciennement Bulletin de l'Association des Chimistes Agriculture et Industrie. n° 9-10. Sept-Oct. 1966: 1180-1201.

SANDRET, F., MICHIELS, L., et BERSSET, C., 1973.- Tubercules de pommes de terre irradiés: Identification par oeillement et culture de tissus. Comunicación n° 15 del Colloque International sur l'identification des denrées alimentaires irradiées. C.C.E. y B.F.L., Karlsruhe.

- SANIN-SADER, J., 1966.- Irradiation studies of fruit and vegetables in Latin América. En: Application of food irradiation in developing countries. IAEA, Vienna, STI/DOC/10/54: 143-145.
- SANKHLA, N., and SANKHLA, D., 1968.- Reversal of ( $\pm$ )-abscisin II induced inhibition of lettuce seed germination and seedling growth by kinetin.- *Physiol. Plant.*, 21: 190-195.
- SAWYER, R.L. and DALLYN, S.L., 1958.- Timing maleic hydrazide sprays to stage of plant development.- *Am. Potato J.*, 35: 620-625.
- SAWYER, R.L. and DALLYN, S.L., 1961.- Irradiation effect on quality of potatoes.- *Am. Potato J.*, 38: 227-235.
- SAWYER, R.L., and DALLYN, S.L., 1964.- Internal sprouting of potatoes.- *Am. Potato J.*, 41: 59-69.
- SAWYER, R.L., 1967.- Sprout inhibition. En: *Potato Processing*. 2nd Ed. Talburt W.F. and Smith o. Avi Publishing Co. Westport, Conn. U.S.A.
- SCHERZ, H., 1970.a.- Evaluation of the structure of the deoxycompounds found in irradiated starch and determination of these products in irradiated wheat and wheat flour. En *Colloquium on the identification of irradiated foodstuffs*.- Luxembourg 1970. Commission of the European Communities 27-36.
- SCHERZ, H., 1970 b.- Conductivity measurement as a method for differentiation between irradiated and non-irradiated potatoes. En *Colloquium on the identification of irradiated foodstuffs*. Luxembourg 1970. Commission of the European Communities, 13-26.

- SCHERZ, H., 1973.- Conductivity measurements as a method for differentiation between irradiated and non irradiated potatoes. Comunicación nº 13 del Colloque International sur l'identification des denrées alimentaires irradiées . C.C.E. y B.F.L., Karlsruhe.
- SCHOENE, D.L. and HOFFMAN, O.L., 1949.- Maleic hydrazide, a unique growth regulant.- Science, 109: 588-590.
- SEKIGUCHI, F., YAMAKAWA, K., and YAMAGUCHI, H., 1971.- Radiation damage in shoot apical meristems of *Antirrhinum majus* and somatic mutations in regenerated buds.- Rad. Bot., 11: 157-171.
- SHIH, C.Y. and RAPPAPORT, L., 1970.- Regulation of bud rest in tubers of potato, *Solanum tuberosum* L. VII. Effect of abscisic and gibberellic acids on nucleic acid synthesis in excised buds.- Plant Physiol., 45: 33-36.
- SKOOG, F. and ARMSTRONG, D.J., 1970.- Cytokinins.- Ann. Rev. Plant Physiol., 21: 359-384.
- SMELTZER, G.G., and MACKAY, D.C., 1963.- The influence of gibberellic acid seed treatment and seed spacing on yield and tuber size of potatoes.- Am. Potato J., 40: 377-380.
- SMITH, O.E., and RAPPAPORT, L., 1965.- Sprouting, plant growth and tuber production as affected by chemical treatment of seed pieces. V. Respiration and sprouting of gibberellin A<sub>3</sub> treated white potatoes held at several storage temperatures.- Am. Potato J., 42: 165-173.
- SMITH, O., 1968.- Dormancy.- En Potatoes: Production, Storing, Processing. The Avi Publishing Co. Westport, Conn. U.S.A.

- SOLANAS, J. and DARDER, A., 1968.- Food irradiation programme in Venezuela.-En: Preservation of fruit on vegetables by radiation. IAEA. Vienna, STI/PUB/ 149: 13-27.
- SPARROW, A.H., and CHRISTENSEN, E., 1950.- Effects of X-ray, neutron and chronic gamma irradiation on growth and yield of potatoes.- Am. J. Bot., 37: 667.
- SPARROW, A.H. and CHRISTENSEN, E., 1954.- Improved storage quality of potato tubers following exposure to gamma radiation for Cobalt 60.- Nucleonics, 12: 16.
- SPARROW, A.H., SCHAIRER, L.A. and SPARROW, R.C., 1963 a.- Relationship between nuclear volumes, chromosome numbers and relative radiosensitivities.- Science, 141: 163-166.
- SPARROW, A.H., SCHAIRER, L.A., SPARROW, R.C. and CAMPBELL, W.F., 1963 b.- The radiosensitivity of Gymnosperms. I. The effect of dormancy on the response of Pinus strobus seedling to acute gamma irradiation.- Rad. Bot., 3: 169-173.
- SPARROW, A.H., SPARROW, R.C., THOMPSON, K.H. and SCHAIRER, L.A., 1965.- The use of nuclear and chromosomal variables in determining and predicting radiosensitivities.- Rad. Bot., 5 Suppl.: 101-132.
- SPARROW, A.H., UNDERBRINK, A.G., and SPARROW, R.C., 1967.- Chromosomes and cellular radiosensitivity. I. The relationship of  $D_0$  to chromosome volume and complexity in seventy-nine different organisms.- Rad. Res., 32: 915-945.
- SPARROW, A.H., ROGERS, A.F. and SCHWEMMER, S.S., 1968.- Radiosensitivity studies with woody plants. I. Acute gamma irradiation survival data for 28 species and predictions for 190 species.- Rad. Bot., 8: 149-186.

- STRASBURGER, E., NOLL, F., SCHENCK, H., y SCHIMPER, A.F.W., 1963.- Tratado de Botánica.- Editorial Marin S.A. Barcelona.
- SUSS, A., 1966.- Effect of low doses of seed irradiation on plant growth.-En: Effects of low doses of radiation on crop plants. Technical Reports Series nº 64. IAEA. Vienna, 1-11.
- SUSSEX, I.M., 1955.- Morphogénesis in *Solanum tuberosum* L.: Apical structure and developmental pattern of the juvenile shoot.- Phytomorphology, 5: 253-273.
- TAYLOR, F.G. Jr., 1966.- Predicted seasonal radiosensitivity of southeastern tree species.- Rad. Bot., 6: 307-311.
- TEPPER, H.B., and HOLLIS, C.A., 1967.- Mitotic reactivation of the terminal bud and cambium of white ash.- Science, 156: 1635-1636.
- TIMM, H., BISHOP, J.C. and HOYLE, B.J., 1959.- Investigations with maleic hydrazide on potatoes. I. Effect of time of application and concentration upon potato performance.- Am. Potato J., 36: 115-123.
- TIMM, H., RAPPAPORT, L., PRIMER, P., and SMITH, O.E., 1960.- Sprouting, plant growth and tuber production as affected by chemical treatment of white potato seed pieces. II Effect of temperature and time of treatment with gibberellic acid.- Am. Potato J., 37: 357-365.
- TIMM, H., RAPPAPORT, L., BISHOP, J.C. and HOYLE, B. J., 1962.- Sprouting, plant growth and tuber production as affected by chemical treatment of white potato seed pieces. IV. Responses of dormant and sprouted seed potatoes to gibberellic acid.- Am. Potato J., 39: 107-115.

- TIZIO, R., 1964.- Influence de l'acide gibberellique et des racines sur la tubérisation et la formation de stolons chez la pomme de terre.- C.R. Acad. Sci. Paris, 259: 1439-1442.
- TIZIO, R., 1966.- Interaction du facteur radiculaire et de l'acide gibberellique sur la croissance des stolons et la tubérisation de la pomme de terre.- C.R. Acad. Sci. Paris, 262: 767-770.
- UNDERBRINK, A.G., SPARROW, A.H., POND, V., TAKAHASHI, C.S., and KAPPAS, A., 1973.- Radiation-induced pollen abortion in several commelinaceous taxa: its relation to chromosomal parameters.- Rad. Bot., 13: 215-227.
- VAN ES, A., and HARTMANS, K.J., 1969.- The influence of abscisin II and gibberellic acid on the sprouting of excised potato buds.- Eur. Potato J., 12: 59-63.
- VAN'T HOF, J., and SPARROW, A.H., 1963.- Growth inhibition, mitotic cycle time and cell number in chronically irradiated root meristems of Pisum.- Rad. Bot., 3: 239-247.
- VARELA, G., y MOREIRAS, O., 1966.- Influencia de la irradiación de patatas en su digestibilidad y valor nutritivo.- Ars pharmaceutica. Laboratorio de Fisiología animal. Facultad de Farmacia. Granada.
- VIDAL, P., 1970.- Aspects économique et commercial des pommes de terre irradiées.- En L'irradiation des pommes de terre. Cahier d'information du bureau Eurisotop n° 45: 122-131.
- WAGGONER, P.E., 1965.- Radiation and resistance of tubers to rot.- Am. Potato J., 32: 448-450.
- WALKER, M.G., 1968.- Action of potato peel extracts in modifying tuber dormancy.- Nature, 217: 878-879.

- WHEELER, A.W., and HUMPHRIES, E.C., 1963.- Effect of gibberellic acid on growth, gibberellin content and chlorophyll content of leaves of potato (*Solanum tuberosum*).- J. Exp. Bot., 14: 132-136.
- WILKENS, W.F.,.- 1958.- The effect of gibberellins on production of the Russet Burbank potato.- Am. Potato J., 39: 729.
- WILLS, P.A., and CLOUSTON, J.G., 1973.- Microbiological and etmological aspects of the food irradiation program in Australia.- En: Radiation preservation of food. IAEA, Vienna, STI/PUB/317: 231-259.
- WILSON, J.B., and HUNTER, J.H., 1965.- Airflow effect on distribution of isopropyl N-(3-chlorophenyl) carbamate (chloro-IPC) applied to bulk bins of potatoes.- Am. Potato J., 42: 1-6.
- YAMAKAWA, K., and SPARROW, A.H., 1965.- Correlation of interphase chromosome volume and reduction of viable seed set by chronic irradiation of 21 cultivated plants during reproductive stages.- Rad. Bot., 5: 557-566.
- YAMAKAWA, K., and SPARROW, A.H., 1966.- The correlation of interphase chromosome volume with pollen abortion induced by chronic gamma irradiation.- Rad. Bot., 6: 21-38.
- ZUCKER, M., 1963.- The influence of light on synthesis of protein and of chlorogenic acid in potato tuber tissue.- Plant Physiol., 38: 575-580.
- ZUCKER, M., 1965.- Induction of phenylalanine deaminase by light and its relation to chlorogenic acid synthesis in potato tuber tissue.- Plant Physiol., 40: 779-784.

## ANEXO I

### Indice de Tablas



## INDICE DE TABLAS

Página.

I.- Relación de países que tienen aprobada la comercialización de patatas irradiadas, mediante radiación gamma, para el consumo humano.	113
II.- Composición del medio para cultivo de yemas aisladas de patata.	124
III.- Tipos de injerto realizados.	130
IV.- Evolución quincenal de la brotación de los tubérculos testigo.	136
V.- Evolución quincenal de la brotación de los tubérculos irradiados en Diciembre a dosis de 3 Krad.	137
VI.- Evolución quincenal de la brotación de los tubérculos irradiados en Diciembre a dosis de 6 Krad.	138
VII.- Evolución quincenal de la brotación de los tubérculos irradiados en Enero a dosis de 3 Krad.	139
VIII.- Evolución quincenal de la brotación de los tubérculos irradiados en Enero a dosis de 6 Krad.	140
IX.- Comparación de los valores finales de la brotación de los tubérculos I: irradiación temprana; II: irradiación tardía.	141

X.- Observaciones realizadas a los dos meses de finalización del reposo de los tubérculos, sobre yemas irradiadas en distinto estado (A,B,C) a diferentes dosis.	153
XI.- Observaciones realizadas a los cuatro meses de finalización del reposo de los tubérculos, sobre yemas irradiadas en distinto estado (A,B,C) a diferentes dosis.	154
XII.- Evolución semanal de la brotación de las yemas testigo sembradas, en tres épocas diferentes, sobre medio Heller.	165
XIII.- Desarrollo de las yemas testigo sembradas en medio Heller con ácido giberélico y con cinetina.	166
XIV.-Evolución semanal del desarrollo de las yemas irradiadas en Diciembre a 3 Krad y sembradas, en tres épocas diferentes, sobre medio Heller.	169
XV.-Evolución semanal del desarrollo de las yemas irradiadas en Diciembre a 6 Krad y sembradas, en tres épocas diferentes, sobre medio Heller.	170
XVI.-Desarrollo de las yemas irradiadas en Diciembre a 3 y 6 Krad, y sembradas en medio Heller con ácido giberélico y con cinetina.	171

XVII.-Desarrollo de las yemas irradiadas en Diciembre a 9 y 12 Krad y sembradas en medio Heller con ácido gibérellico y con cinetina.	172
XVIII.-Evolución semanal del desarrollo de las yemas irradiadas en Enero a 3 Krad y sembradas, en dos épocas diferentes, sobre medio Heller.	185
XIX.-Evolución semanal del desarrollo de las yemas irradiadas en Enero a 6 Krad y sembradas, en dos épocas diferentes, sobre medio Heller.	186
XX.-Desarrollo de las yemas irradiadas en Enero a 3 y 6 Krad y sembradas en medio Heller con ácido gibérellico y con cinetina.	187
XXI.-Desarrollo de las yemas irradiadas en Enero a 9 y 12 Krad y sembradas en medio Heller con ácido gibérellico y con cinetina	188
XXII.-Desarrollo de las yemas irradiadas en Diciembre injertadas sobre su mismo parénquima y sembradas en medio Heller.	201
XXIII.-Desarrollo de las yemas irradiadas en Enero injertadas sobre su mismo parénquima y sembradas en medio Heller.	202

XXIV.- Desarrollo de las yemas testigo injertadas sobre parénquima irradiado y sembradas en medio Heller.	203
XXV.- Desarrollo de las yemas irradiadas en Diciembre injertadas sobre parénquima testigo y sembradas en medio Heller.	204
XXVI.- Desarrollo de las yemas irradiadas en Enero injertadas sobre parénquima testigo y sembradas en medio Heller.	205
XXVII.- Evolución semanal del desarrollo de yemas procedentes de tubérculos testigo sembradas, en tres épocas diferentes, sobre medio Heller.	214
XXVIII.- Evolución semanal del desarrollo de yemas procedentes de tubérculos refrigerados sembradas, en tres épocas diferentes, sobre medio Heller.	215
XXIX.- Evolución semanal del desarrollo de yemas procedentes de tubérculos tratados con IPC-CIPC sembradas, en tres épocas diferentes, sobre medio Heller.	216
XXX.- Evolución semanal del desarrollo de yemas procedentes de tubérculos tratados con hidrazida maleica sembradas, en tres épocas diferentes, sobre medio Heller.	217

## ANEXO II

### Indice de Figuras

## INDICE DE FIGURAS

	Página
1.- Esquema del ciclo vegetativo de la patata.	5
2.- Homología entre la configuración de un tallo aéreo y un tubérculo.	7
3.- Esquema de la anatomía interna de un tubérculo.	8
4.- Esquema de la sucesión en profundidad de los tejidos de un tubérculo.	8
5.- Esquema de la organización túnica-corpus del brote de patata.	14
6.- Modelo de zonación de Clowes (explicación en el texto).	14
7.- Sección longitudinal de un ápice de patata (Según Leshem y Clowes 1972).	17
8.- Interpretación personal de la estructura de un brote de patata.	17
9.- Esquema de la desintegración del $^{60}\text{Co}$ .	51
10.- Esquema general de la evolución del daño producido por la radiación en las células.	56
11.- Esquema del efecto "fotoeléctrico".	59

12.- Esquema del efecto "Compton".	59
13.- Esquema de la "producción de un par".	59
14.- Esquema de los principales tipos de lesiones que pueden sufrir las moléculas de DNA, bajo la acción de las radiaciones ionizantes.	65
15.- Escala de radiosensibilidad biológica.	81
16 A.- Esquema de la realización de un injerto.	128
16 B.- Detalle del injerto.	129
17.- Brotación de los tubérculos testigo e irradiados, a lo largo del tiempo de almacenamiento. I irradiación Diciembre; II irradiación Enero.	142
18.- Evolución del número total de brotes relativo a 100 tubérculos, en función del tiempo. I irradiación Diciembre; II irradiación Enero.	143
19.- Evolución de la longitud total de los brotes, relativa a 100 tubérculos, en función del tiempo. I irradiación Diciembre; II irradiación Enero.	144
20.- Diagrama comparativo de los valores finales relativos a la brotación de los tubérculos testigo frente a los irradiados temprana y tardíamente. I irradiación Diciembre; II irradiación Enero.	145

21.- Esquema de la evolución normal de una yema testigo.	155
22.- Yema testigo (tipo A).	156
23.- Yema testigo (tipo B).	156
24.- Yema testigo (tipo C).	157
25.- Yema en pleno desarrollo.	157
26.- Esquema del efecto de las distintas dosis de irradiación sobre yemas de tipo A.	158
27.- Estado de una yema de tipo A cuatro meses después de la irradiación (dosis: 6 Krad).	159
28.- Estado de una yema de tipo A cuatro meses después de la irradiación (dosis: 9 Krad).	159
29.- Esquema del efecto de las distintas dosis de irradiación sobre yemas de tipo B.	160
30.- Estado de una yema de tipo B cuatro meses después de la irradiación (dosis: 6 Krad).	161
31.- Estado de una yema de tipo B cuatro meses después de la irradiación (dosis: 9 Krad).	161



32.- Esquema del efecto de las distintas dosis de irradiación sobre yemas de tipo C.	162
33.- Estado de una yema de tipo C cuatro meses después de la irradiación (dosis: 3 Krad).	163
34.- Estado de una yema de tipo C dos meses después de la irradiación (dosis: 9 Krad).	163
35.- Desarrollo de una yema testigo cultivada en medio Heller.	173
36.- Desarrollo de una yema testigo cultivada en medio Heller con 10 p.p.m. de AG.	174
37.- Desarrollo de una yema testigo cultivada en medio Heller con 5 p.p.m. de cinetina.	175
38.- Esquema de los tipos morfológicos de desarrollo de yemas testigo e irradiadas tempranamente bajo la acción de los distintos tratamientos.	176
39.- Roseta basal de una yema irradiada tempranamente a dosis de 3 Krad y cultivada en medio Heller.	177
40.- Yema irradiada tempranamente a dosis de 9 Krad y cultivada en medio Heller.	178
41.- Yema irradiada tempranamente a dosis de 6 Krad y cultivada en medio Heller con 10 p.p.m. de AG.	179

42.- Yema irradiada tempranamente a dosis de 3 Krad y cultivada en medio Heller con 5 p.p.m. de cinetina.	180
43.- Yema irradiada tempranamente a dosis de 3 Krad y cultivada en medio Heller con 5 p.p.m. de cinetina. A) vista en conjunto. B) Detalle del brote central y de la roseta basal.	181
44.- Brote truncado producido por la irradiación tardía. Yema irradiada a 3 Krad cultivada en medio Heller.	189
45.- Esquema de los tipos morfológicos de desarrollo de yemas testigo e irradiadas tardíamente, bajo la acción de los distintos tratamientos.	190
46.- Yema irradiada tardíamente a dosis de 3 Krad y cultivada en medio Heller con 10 p.p.m. de AG.	191
47.- Yema irradiada tardíamente a dosis de 3 Krad y cultivada en medio Heller con 5 p.p.m. de cinetina.	192
48.- Yema irradiada tardíamente a dosis de 3 Krad y cultivada en medio Heller con 10 p.p.m. de AG.	193
49.- Yema irradiada tardíamente a dosis de 3 Krad y cultivada en medio Heller con 5 p.p.m. de cinetina.	194
50.- Diagrama comparativo de los valores de brotación de las yemas testigo o irradiadas, sembradas en medio Heller en tres épocas. Observaciones realizadas a los días. I irradiación Diciembre; II irradiación Enero.	195

- 51.- Diagrama comparativo de la longitud total de los brotes de las yemas testigo e irradiadas, al cabo de 28 días de cultivo en medio Heller. Valores referidos a cien yemas, en tres épocas de siembra. I irradiación de Diciembre; II irradiación de Enero. 196
- 52.- Diagrama comparativo de la brotación final de las yemas testigo e irradiadas, cultivadas en medio Heller con fitorreguladores durante 28 días. I irradiación de Diciembre; II irradiación de Enero. 197
- 53.- Diagrama comparativo de las longitudes totales de las yemas testigo e irradiadas, cultivadas en medio Heller con fitorreguladores durante 28 días. Valores referidos a 100 yemas. I irradiación de Diciembre; II irradiación de Enero. 198
- 54.- Desarrollo de una yema testigo injertada sobre parénquima de su mismo tipo. 206
- 55.- Detalle del desarrollo de una yema testigo injertada sobre parénquima testigo. 207
- 56.- Detalle del desarrollo de una yema testigo injertada sobre parénquima irradiado a dosis de: A) 3 Krad. B) 6 Krad. 208
- 57.- Detalle del desarrollo de una yema testigo injertada sobre parénquima irradiado a dosis de: A) 9 Krad. B) 12 Krad. 209

58.- Diagrama comparativo de la brotación de los distintos tipos de injertos al cabo de 28 días de cultivo.	210
59.- Diagrama comparativo de la longitud total alcanzada por los brotes de las yemas injertadas al cabo de 28 días de cultivo. Valores referidos a 100 injertos.	211
60.- Estado comparativo en que se encontraban los tubérculos testigo, refrigerados, tratados con MH, con IPC-CIPC e irradiados, a los tres meses de su almacenamiento.	218
61.- Estado de los tubérculos testigo a los tres meses de su almacenamiento.	219
62.- A) Estado de los tubérculos refrigerados a los tres meses de su almacenamiento. B) Detalle de las yemas.	220
63.- A) Estado de los tubérculos tratados con MH a los tres meses de su almacenamiento. B) Detalle de las yemas.	221
64.- A) Estado de los tubérculos tratados con IPC-CIPC a los tres meses de su almacenamiento. B) Detalle de las yemas.	222
65.- A) Estado de los tubérculos irradiados a dosis de 9 Krad tres meses después de su almacenamiento. B) Detalle de las yemas.	223

66.- Desarrollo de las yemas testigo y tratadas con IPC- -CIPC, cultivadas en medio Heller.	224
67.- Detalle del desarrollo de una yema, procedente de un tubérculo tratado con MH, y cultivada en medio Heller.	225
68.- Detalle de una yema, procedente de tubérculos irradiados (dosis: 9 Krad), cultivada en medio Heller.	226
69.- Diagrama comparativo de las longitudes finales alcanzadas por los brotes de las yemas procedentes de los tubérculos testigo y tratados. Valores relativos al desarrollo de 100 yemas durante 28 días en tres épocas de siembra.	227
70.- Diagrama comparativo de los distintos c.a.v. (coeficientes de actividad vegetativa) en los tubérculos testigo y tratados. I irradiación de Enero; II irradiación de Diciembre.	230
71.- Yema irradiada, a dosis de 3 Krad, en un estado avanzado de desarrollo. Obsérvese el ápice destruido y una axilar emergiendo.	234
72.- Yema testigo injertada sobre parénquima de 3 Krad. Obsérvese la yema testigo brotando normalmente mientras que una adventicia del parénquima de 3 Krad desarrolla únicamente los primordios foliares.	241

73.- Yema irradiada, a dosis de 9 Krad, injertada sobre parénquima testigo. Obsérvese el desarrollo de una yema adventicia en el parénquima testigo, mientras que la yema irradiada no presentó síntomas de brotación alguna.